UC-NRLF
B 3 778 061

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO

Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin,

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **M. Bergmann**-Berlin-Dahlem, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **R. Doerr**-Basel, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **E. Hägglund**-Abo, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **R. O. Herzog**-Berlin-Dahlem, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, M. Kochmann-Halle a. S., **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **E. Laqueur**-Amsterdam, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **S. Loewe**-Dorpat, **A. Loewy**-Berlin, **Th. Madsen**-Kopenhagen, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **J. K. Parnas**-Lemberg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **H. Sachs**-Heidelberg, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **T. Sasaki**-Tokio, **A. Scheunert**-Berlin, **A. Schloßmann**-Düsseldorf, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Basel, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **K. Suto**-Kanazawa, **U. Suzuki**-Tokio. **H. v. Tappeiner**-München, **K. Thomas**-Leipzig, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **O. Warburg**-Berlin, **E. Widmark**-Lund, **W. Wichowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertvierundzwanzigster Band

Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Bürger, Max. Über die Wirkung der intravenösen Injektion hypertonischer Lösungen verschiedener Zuckerarten auf den respiratorischen Gaswechsel des Hundes 1

Brinkman, R. und **Frl. H. Wastl.** Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. IV. Über die Bedeutung des Verhältnisses Cholesterin-Lecithin der Körperchenoberfläche für die Stabilität der Blutkörperchensuspension und für die natürliche Hämolyse 25

Levene, P. A. Synthese von 2-Hexosaminsäuren und 2-Hexosaminen . . . 37

Bode, G. und **K. Hembd.** Über den Mangangehalt von Kartoffeln 84

Oparin, Alexander. Das grüne Atmungspigment und seine Bedeutung bei der Oxydation der Eiweißkörper in den keimenden Samen des Helianthus-Annuus 90

Bayer, Gustav. Über eine Veränderung des Glykogens durch Belichtung . 97

Aiello, Josef. Über den Einfluß der venösen Stauung auf den Quellungszustand der Blutkörperchen 100

Richter-Quittner, M. Zur Methodik der chemischen Blutanalyse. III. Die Bedeutung der Ultrafiltrationsmethode für die Blutanalytik 106

Muresanu, Augustin. Über die Verteilung des Chlors auf Blutkörperchen und Plasma bzw. Serum 114

Olsen, O. Die Wirkung des Kaolins auf die Endstückkomponente und das Tributyrinspaltungsvermögen des Meerschweinchenserums 119

Joachimoglu, Georg. Vergleichende Untersuchungen über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens . . 130

Meier, Klothilde. Über die aktuelle Reaktion des Liquor cerebrospinalis. (Mit 2 Abbildungen im Text.) 137

Funck, Albert. Ein Beitrag zur Lehre von der Blutgerinnung 148

Nees, Friedrich. Über die lipolytische Fähigkeit der weißen Blutkörperchen 156

Schachenmeier, Hermann. Beitrag zur agglutinogenen Wirkung der Bakterienfette. (Mit 7 Abbildungen im Text.) 165

Haan, J. de und **S. van Creveld.** Über die Wechselbeziehungen zwischen Blutplasma und Gewebeflüssigkeiten, insbesondere Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit. (Mit 1 Abbildung im Text.) 172

Forssman, J. Zur Chemie der Wassermannreaktion. II. Mitteilung . . . 185

Aiello, Giuseppe. Über die Verteilungskoeffizienten der Diuretica und Narkotica und die Theorie der Narkose 192

111722

Gilbert, Oskar. Über Lipoide. XVIII. Mitteilung. Über die Darstellung von Phosphorsulfatiden aus Gehirn 206
Fränkel, Sigmund und **Artur Kász.** Über Lipoide. XIX. Mitteilung. Über ein Lecithin aus Menschenhirn 216
Aiello, G. Über die Chemie der Normal- und der Gauchermilz 228
Sammartino, Ubaldo. Über die Chemie der Lunge. I. Mitteilung . . . 234
Miyadere, Koichi. Über die Funktion der Verdauungsdrüsen bei Avitaminosen 244
Salén, Ernst. Serum und Plasma im Ultramikroskop 248
Straub, H. und **Klothilde Meier.** Die Alkalireserve der Nierenkranken . 259
Freundlich, H. Bemerkungen zu den Abhandlungen von Heinrich Herbst über Adsorptionskohle 298
Freudenberg E. und **P. Gjörgy.** Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VI 299
Autorenverzeichnis 311

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

MED. CENTER
JAN 2 19
San Francisco, 2

Herausgegeben von

F. Hofmeister - Würzburg. C. von Noorden - Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Feigl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kochmann-Halle a. S., F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Berlin, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg - Berlin

Hundertvierundzwanzigster Band

Erstes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 21. November 1921

Berlin

Verlag von Julius Springer

1921

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 64.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer
Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

124. Band. Inhaltsverzeichnis. Heft 1/6.

Seite

Bürger, Max. Über die Wirkung der intravenösen Injektion hypertonischer Lösungen verschiedener Zuckerarten auf den respiratorischen Gaswechsel des Hundes 1

Brinkmann, R. und **Frl. H. Wastl.** Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. IV. Über die Bedeutung des Verhältnisses Cholesterin-Lecithin der Körperchenoberfläche für die Stabilität der Blutkörperchensuspension und für die natürliche Hämolyse 25

Levene, P. A. Synthese von 2-Hexosaminsäuren und 2-Hexosaminen 37

Bode, G. und **K. Hembd.** Über den Mangangehalt von Kartoffeln 84

Oparin, Alexander. Das grüne Atmungspigment und seine Bedeutung bei der Oxydation der Eiweißkörper in den keimenden Samen des Helianthus-Annuus 90

Bayer, Gustav. Über eine Veränderung des Glykogens durch Belichtung 97

Aiello, Josef. Über den Einfluß der venösen Stauung auf den Quellungszustand der Blutkörperchen 100

Richter-Quittner, M. Zur Methodik der chemischen Blutanalyse. III. Die Bedeutung der Ultrafiltrationsmethode für die Blutanalytik 106

Muresanu, Augustin. Über die Verteilung des Chlors auf Blutkörperchen und Plasma bzw. Serum 114

Olsen, O. Die Wirkung des Kaolins auf die Endstückkomponente und das Tributyrinspaltungsvermögen des Meerschweinchenserums . 119

Joachimoglu, Georg. Vergleichende Untersuchungen über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens 130

Meier, Klothilde. Über die aktuelle Reaktion des Liquor cerebrospinalis. (Mit 2 Abbildungen im Text.) 137

Funck, Albert. Ein Beitrag zur Lehre von der Blutgerinnung . . 148

Nees, Friedrich. Über die lipolytische Fähigkeit der weißen Blutkörperchen 156

Schachenmeier, Hermann. Beitrag zur agglutinogenen Wirkung der Bakterienfette. (Mit 7 Abbildungen im Text.) 165

de Haan, J. und **S. van Crefeld.** Über die Wechselbeziehungen zwischen Blutplasma und Gewebeflüssigkeiten, insbesondere Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit. (Mit 1 Abbildung im Text.) 172

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses siehe III. Umschlagseite!

Über die Wirkung der intravenösen Injektion hypertonischer Lösungen verschiedener Zuckerarten auf den respiratorischen Gaswechsel des Hundes.

Von

Max Bürger.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 26. Juli 1921.)

Mehrere Fragen wollte ich durch das Studium der Wirkung intravenöser Injektionen hypertonischer Zuckerlösungen beantworten. Eine der ältesten Mitteilungen, die in dieses Gebiet einschlägt, von Harley[1]) behauptet, daß beim Hunde nach intravenöser Injektion von 10 g Dextrose pro Körperkilo erst in der 4., 6. resp. 7. Stunde nach der Infusion eine Änderung des respiratorischen Quotienten sich einstelle [Harley[1])], zu einer Zeit also, in welcher nach allen Erfahrungen der Blutzucker längst zur Norm zurückgekehrt und der überschüssige Zucker teils den Körper durch die Nieren verlassen hat, teils in die Gewebe abgeflossen ist. Wie rasch das Verschwinden injizierten Zuckers aus dem Blute vor sich geht, habe ich[2]) erst neuerdings durch eine umfangreiche experimentelle Arbeit wieder festgestellt. Eine Steigerung des respiratorischen Quotienten fanden Zuntz und Mehring[3]) 1883 am Kaninchen nach Zuckerinjektionen ins Blut, später stellte Wolfers[4]) fest, daß beim hungernden Kaninchen der respiratorische Quotient schon während der Infusion von 0,73 auf 0,93 ansteige. Würden die Befunde von Harley das Richtige treffen, so müßte die leicht angreifbare Dextrose erst

[1]) Harley, Journ. of physiol. **15**, 139—161.

[2]) Zeitschr. f. d ges. exp. Med. 1921.

[3]) Zuntz u. Mehring, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **32**, 173. 1883.

[4]) Wolfers, ebenda **32**, 222. 1883.

nach einer Inkubationszeit von mehreren Stunden ihre Wirkung auf den Stoffwechsel geltend machen. Das ist nach allem, was wir vermuten können, sehr unwahrscheinlich. Es war also meine erste Aufgabe, zu prüfen, ob unter gleichen Versuchsbedingungen nach intravenösen Zuckerinfusionen ein gesetzmäßiger zeitlicher Ablauf in der Änderung des respiratorischen Quotienten und der Calorienproduktion zu erkennen ist.

Die zweite Frage ging dahin, ob nicht die Störung des osmotischen Gleichgewichts an sich eine Steigerung der Calorienproduktion zur Folge haben könne. Für die menschliche Pathologie und Therapie hat dieses Problem deswegen besondere Bedeutung, weil man in gewissem Umfange berechtigt ist, von einer Störung der Isoosmie therapeutische Wirkungen zu erwarten. Experimentelle Untersuchungen in dieser Richtung sind von Lipschütz[1]), Nonnenbruch[2]), mir und meinem Mitarbeiter Hagemann[3]) in jüngster Zeit in Angriff genommen worden, und alle in dieses Gebiet einschlägigen therapeutischen Effekte dem Begriff der Osmotherapie subsummiert worden. Über das Ausmaß der osmotischen Komponente bei der Änderung des Gaswechsels nach intravenöser Zuckerinfusion mußte man dann am raschesten Aufschluß erhalten, wenn einerseits leicht verbrennbare, andererseits parenteral nicht angreifbare Zuckerarten unter vergleichbaren Bedingungen nach intravenöser Injektion in ihren Wirkungen auf den Gaswechsel studiert wurden. Als dritte Frage interessierte mich das Problem, ob der Gaswechsel nach intravenösen Injektionen von angreifbaren Zuckerlösungen sich auch dann ändert, wenn der Infusion Hunger resp. Muskelarbeit voraufgeschickt wurde, die Glykogendepots also weitgehend entleert waren. Johannson[4]) fand nämlich nach Zufuhr von Kohlenhydraten regelmäßig eine Erhöhung der Kohlensäureausfuhr. Die CO_2-Abgabe blieb aber gering, wenn der Kohlenhydratzufuhr Hunger oder Arbeit vorausgeschickt waren. Nach diesen Befunden war also ein Ausbleiben der vermehrten Zuckerverbrennung zugunsten der Glykogenspeicherung dann zu er-

[1]) Lipschütz, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **85**. 1920.

[2]) Nonnenbruch, Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg 1920 und Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 1920.

[3]) Bürger und Hagemann, Über Osmotherapie. Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 8.

[4]) Johannson, Skandinav. Arch. f. Physiol. **21**, 1. 1908.

warten, wenn die Zuckerinjektionen nach voraufgehender Nahrungsentziehung und Muskelarbeit gemacht wurden.

Die Versuche wurden am tracheotomierten Tier in der am Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule üblichen Weise durchgeführt.

Der 7 kg schwere Hund lag nach tagelangen Vorübungen während der Respirationsversuche am Zuntz-Geppertschen Apparat vollkommen ruhig. Es wurde jeweilig mit der Entnahme des Exspirationsgases erst dann begonnen, wenn eine ganz gleichmäßige Ventilation erreicht war. Die Zuckerinjektionen wurden stets in 50 proz. Lösungen in die freigelegte Vena jugularis gemacht und gelangen mit einer Ausnahme ohne Störungen. Die erste Untersuchung wurde am frühen Morgen am nüchternen Tier angestellt, dann möglichst rasch nach vollendeter Infusion die weiteren Gasentnahmen gemacht und die Untersuchungen so lange fortgesetzt, bis der Ruhewert wieder erreicht war. Die Gasanalysen wurden im Haldaneschen Apparat in bekannter Weise gemacht. In allen Versuchen wurde die Ventilationsgröße genau festgestellt, in den späteren Versuchen auch die Körpertemperatur geprüft. Die in den Protokollen angegebenen Werte für die CO_2-Produktion und den O_2-Verbrauch sind stets auf 760 mm Druck und 0° reduziert.

Vergleich der Ergebnisse eines Doppelversuchs nach Zuntz-Geppert mit dem Resultat eines achtstündigen Versuchs im geschlossenen pneumatischen Kabinett.

Um die Genauigkeit der Zuntz-Geppertschen Methode im Vergleich mit Kammerversuchen darzutun, habe ich in einem Selbstversuch am Abend eine Gasentnahme am Zuntz-Geppertschen Apparat machen lassen, mich sodann während der Nacht schlafend in einem geschlossenen pneumatischen Kabinett aufgehalten und am Morgen sofort nach Abbruch des 8stündigen Versuchs einen zweiten Respirationsversuch am Zuntz-Geppertschen Apparat angeschlossen. Bei der Durchführung dieser Versuche waren mir Fräulein M. Steuber und Dr. W. Klein (Assistenten des Instituts) in weitgehender Weise behilflich, wofür ich ihnen auch an dieser Stelle danke.

Selbstversuch.

Ernährung am Vortage des Versuchs:

Morgens: 1 Ei, 50 g Brot;
12^h: 100 g Gebäck;
3^h: 1 Ei, 250 g durchgerührten Spinat, 1 Eierkuchen (1 Ei, ca. 30 g Mehl, ca. 20 g Fett);
7^h: 1 Ei, 50 g Brot.

I. Zuntz-Geppert-Versuch am 27. IV. 1921 abends 10^h.

Temperatur 20°, Atemvolumen 4,12 Liter pro Min., 10 Atemzüge pro Min., Barometer 67,8 mm Hg. Dauer des Versuchs 21 Minuten. Ergebnis der Gasanalysen:

3,817 CO_2	3,829 CO_2	R.Q.
16,511 O_2	16,392 O_2	0,834
79,672 N_2	79,675 N_2.	

Daraus berechnen sich Calorien: Für 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht 18,21, für 24 Stunden und 66 kg 1202,0 und für 24 Stunden und 1 qm 598,3.

II. Zuntz-Geppert-Versuch am Morgen des 28. IV. 1921.

Temperatur 19,5°, Atemvolumen 5,2 Liter pro Min., 12 Atemzüge pro Min., Barometer 67,0 mm Hg. Dauer des Versuchs 17 Min. Ergebnis der Gasanalysen:

3,908 CO_2	3,868 CO_2	R.Q.
16,392 O_2	16,415 O_2	0,828
79,700 N_2	79,717 N_2.	

Für die morgens nüchtern gewonnenen Werte werden berechnet: Für 24 Stunden und 1 kg Körpergewicht 23,63 Calorien, für 24 Stunden und 66 kg 1559,5 Calorien und für 24 Stunden und 1 qm 776,3 Calorien.

III. Versuch im pneumatischen Kabinett vom 27. IV. abends.

Kammervolumen abzüglich Körper und Matratzen 7855 Liter.

Datum	Manom.-Stand in mm H_2O	Thermometer in der Kammer feucht	trocken	Barometerstand
27. IV. 10^h 25′ abends	+0	15,8°	20,4°	765,8
28. IV. 6^h 25′ morgens	−8	19,2°	20,2°	767,7.

Der psychrometrischen Differenz von 6° entsprechen bei 20,4° eine H_2O-Spannung von 10,6 mm Hg.

Wahrer Luftdruck demnach: 765,8

$$\underline{-\ 10{,}6}$$

755,2 mm Hg.

Volumen der Luft in der Kammer reduziert auf 0° und 760 mm Hg, demnach 7064,8 Liter.

Ergebnis der Gasanalysen:

0,121% CO_2 20,882% O_2 78,992% N_2.

Daraus berechnen sich für das Kabinett:

8,55 Liter CO_2
1475,2 „ O_2
5581,0 „ N_2.

Schluß des Versuches:

Psychrometrische Differenz = 1,0° entspricht bei 20,2° 15,9 mm Hg. Im Kabinett: −8 mm Wasser Unterdruck = 0,6 mm Hg. Demnach wahrer Luftdruck im Kabinett:

767,7
— 15,9
— 0,6
751,2 mm Hg.

Daraus berechnet sich das Kammervolumen bei 20,2° und 751,2 mm Hg zu 7033,8 Liter.

Ergebnis der Gasanalysen:

1,296% CO_2 19,425% O_2 79,279% N_2.

In der Kammer demnach:

91,16% CO_2 1366,3% O_2 5576,2% N_2.

Es ergibt sich ein Verlust von 4,7 Liter N_2, entsprechend einer Sauerstoffmenge von 1,2 Liter, die der Menge von 1366,3% O_2 hinzuzufügen ist.

Wahre CO_2-Produktion für 8 Stunden	Wahrer O_2-Verbrauch
82,61 Liter	107,7 Liter.

Aus diesen Werten berechnet sich der respiratorische Quotient zu 0,767. Hier ist eine Korrektion für die Kohlensäureabsorption durch das Gewebe anzubringen. 66 kg Gewebe absorbieren bei einer CO_2-Spannung von 10 mm Hg bei 373° 5,184 Liter CO_2. Dieser Wert ist der Kohlensäureproduktion von 82,61 Liter hinzuzufügen. Korrigierter CO_2-Wert demnach 87,76 Liter für 8 Stunden. Unter Benutzung dieses Kohlensäurewertes berechnet sich der respiratorische Quotient zu 0,815. Die Calorienproduktion aus dem Sauerstoffverbrauch unter Einsatz des respiratorischen Quotienten von 0,815 ist demnach folgende: R.Q. 0,767.

Calorien für	24	Stunden und	1 kg	Körpergewicht	23,31
„ „	24	„	„ 66 „	„	1538,2
„ „	24	„	„ 1 qm		765,72

Man erkennt aus diesen Versuchen eine nahezu vollkommene Übereinstimmung der Ergebnisse, die mit dem Zuntz-Geppertschen Apparat gewonnen wurden mit denjenigen im Kammerversuch. Die Differenz des ersten und zweiten Zuntz-Geppertschen Versuches ist im wesentlichen durch eine Differenz der Atemgröße bedingt. In beiden Versuchen wurde mit der Gasabnahme erst dann begonnen, wenn eine Viertelstunde ruhiger und gleichmäßiger Atmung vorübergegangen war. Der erste am Abend vorgenommene Versuch wurde bei großer körperlicher Müdigkeit angestellt. Daß das Atemvolumen willkürlich eine halbe Stunde lang reduziert werden kann, ist wenig plausibel. Eher begreiflich erscheint es, daß das Atemvolumen am Morgen, nachdem die Versuchsperson aus einer Kohlensäureatmosphäre von 1,296% herauskam, das Bedürfnis empfand, durch gesteigerte Ventilation die in den Geweben retinierte Kohlensäure wegzuatmen. Wie

weit die Annahme eines Korrektionsfaktors für die Versuche im pneumatischen Kabinett bei erheblicher Kohlensäureanreicherung berechtigt sind, sollen weitere Versuche ergeben. Die hier mitgeteilten Vergleichsversuche lehren auf jeden Fall, daß bei Anwendung des Zuntz-Geppertschen Verfahrens, wie überhaupt bei jedem kurzdauernden Verfahren, die Umrechnung auf Tageswerte mit großer Zurückhaltung geübt werden darf. Jeder Einfluß, auf die Atmungsgröße kann wie diese Versuche lehren, einen wechselnden Ausfall der Gesamtcalorienproduktion zur Folge haben. So weit es der Zustand des Kranken, die Art der Fragestellung gestattet, ist es wünschenswert, stets das Mittel aus drei kurzdauernden Versuchen der Berechnung zugrunde zu legen. Andererseits ist die Durchführung der Versuche am Zuntz-Geppertschen Apparat für viele klinische Zwecke, bei denen vorübergehende Einwirkungen studiert werden sollen, die allein mögliche. Ausschläge, die in kurzdauernden Versuchen sowohl für den respiratorischen Quotienten wie für die Calorienproduktion deutlich erkennbar sind und weit außerhalb der physiologischen Schwankungen liegen, würden in einem vielstündigen Kammerversuch nicht wieder zu finden sein.

Voraussetzung für eine sichere Durchführung der Versuche am Zuntz-Geppertschen Apparat am Patienten sind erstens eine absolut ruhige bequeme Lage, zweitens Ausschaltung aller die Aufmerksamkeit ablenkenden und damit die gleichmäßige Atmung störender Momente im Versuchszimmer und drittens eine gewisse Einübung des Probanden durch die Ventile unter Anwendung der Nasenklemme zu atmen. Diese Versuchsbedingungen sind in den allermeisten Fällen leicht zu erreichen. Es wird außerdem das Peinliche vermieden, das doch das Einschließen eines schwerkranken Menschen in eine Respirationskammer für die Dauer mehrerer Stunden mit sich bringt.

Zu den Ergebnissen des aus rein technischen Gründen unternommenen Selbstversuches ist zu sagen, daß der Ruheumsatz von 23,59 Calorien pro kg oder 775,2 Calorien pro qm weit niedriger liegt als die von Magnus Levy[1]) für „Zimmerruhe" zusammengestellten Werte, welche zwischen 27,9 Calorien pro kg und 43,8 Calorien pro qm schwanken. Es zeigt sich, daß in voller Übereinstimmung mit den nur selten in dieser Konsequenz von Baumgart und Steuber[2]) durchgeführten Versuchen

[1]) Magnus Levy in v. Noorden, Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels, Bd. I, S. 291. 2. Aufl., Berlin 1906.

[2]) Baumgart und Steuber, diese Zeitschr. **111**, 84. 1920.

an Schlafenden der Ruheumsatz sensu strictiori sich bei vollkommen gesunden Menschen weit niedriger stellt als die bisher in der Literatur angegebenen Werte. Benedict hat die Wärmeproduktion und den Gaswechsel seiner Versuchspersonen für je 2 Stunden während des Tages und der Nacht gesondert bestimmt. Danach übertrifft der Umsatz des ganzen Tages den der Nachtstunden von 11—3 in der Wärmeabgabe von 35,8%, im Sauerstoffverbrauch um 32,3%, in der CO_2-Abgabe 16,1% (zit. nach N. Zuntz, Lehrbuch der Physiologie des Menschen von Zuntz und Löwy, 3. Aufl., Leipzig 1920, S. 693).

Vergleich der Ergebnisse des Zuntz-Geppert-Versuchs mit dem 8stündigen Kammerversuch bei absoluter Körperruhe:

	a) Zuntz-Geppert-versuch	b) 8stündiger Kammervers.
Respiratorischer Quotient	0,828	0,815
Calorien für 24 Std. und 1 kg Körpergew.	23,63	23,59
„ „ 24 „ „ 66 „ „	1559,5	1557,2
„ „ 24 „ „ 1 qm Oberfläche	776,3	775,2

Zuckerinjektionsversuche am tracheotomierten Hund.

Tabelle I.

Versuch 4. a) Dextroseversuche.

Dat. 22. III. 1921, Bar. 767,2.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation pro Min. Liter	Lufttemp. Grad	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Q.	g-Cal. pro Min.	Bemerkungen
1	34—24 vor	1,31	21	3,158	42,96	61,08	0,703	285,93	
2	14—25 nach	1,91	22	3,944	68,26	71,39	0,956	356,44	Inv. Inj. 35 g Dextrose
3	37—50 „	1,83	22	3,838	63,73	64,29	0,991	323,76	in 70 ccm aq.
4	68—83 „	1,61	22	3,648	55,59	58,36	0,909	288,04	
5	117—126 „	2,09	23	2,258	42,55	59,66	0,713	280,14	Tier hechelt. 60 Atem-
6	152—165 „	1,55	23	2,412	33,83	42,76	0,791	204,84	züge in der Minute

Max. Zunahme der Wärmeprod. = 24,7%. Zuckerausscheidung in den ersten 20 Stunden in 300 ccm Harn 4,5 g D.

Versuch 4 (Tab. I): Der Versuch verläuft im allgemeinen ungestört, nur in der 117. bis 126. Minute fängt das Tier an zu hecheln und atmet etwa 60 mal in der Minute. Dadurch steigt das Minutenvolumen erheblich an und der prozentische Kohlensäuregehalt der Exspirationsluft fällt plötzlich ab. Von dieser Störung abgesehen, lassen sich die erhaltenen Werte als Folgen der Dextroseinjektion diskutieren, welche innerhalb weniger Minuten ungestört durchgeführt werden konnte. Die prozentischen Werte der CO_2 in der Exspirationsluft steigen nach der Dextroseinjektion sofort an und erreichen erst in der 68. bis 83. Minute

wieder den Ausgangswert. Die Minutenwerte für die CO_2-Produktion und den O_2-Verbrauch steigen in der 14. bis 25. Minute nach der Injektion erheblich an, doch steigt die Kohlensäureproduktion stärker als der Sauerstoffverbrauch, woraus eine Steigerung des respiratorischen Quotienten von 0,703 als Nüchternwert auf 0,956 resultiert. In der zweiten Periode nach der Injektion (37. bis 50. Minute) sind die absoluten Werte der CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch bereits wieder im Sinken, der respiratorische Quotient jedoch noch hoch (0,991). In der dritten Periode nach der Injektion ist der O_2-Verbrauch unter den Ausgangswert gesunken, die CO_2-Produktion liegt dagegen noch höher als der Nüchternwert. Der respiratorische Quotient liegt bei 0,909. In der 117. bis 126. Minute nach der Injektion ist der Ausgangswert für alle Faktoren wieder erreicht. Berechnet man mit Hilfe des O_2-Verbrauchs und des R.Q. den Calorienverbrauch pro Minute, so ergibt sich eine maximale Zunahme der Wärmeproduktion von 24,7% in der 14. bis 25. Minute nach der Injektion. Bereits 1 Stunde nach der Injektion hat die Calorienproduktion wieder ihren Ruhewert erreicht.

Besondere Beachtung schenkte ich der Ventilationsgröße, weil sie ein Hauptwärmeregulationsmittel für den tracheotomierten Hund darstellt. Es zeigt sich, worauf ich später im Zusammenhang eingehen werde, in fast allen Versuchen eine der Calorienproduktion genau entsprechende Steigerung der Ventilationsgröße. Die Ventilationsgröße steigt in der 14. bis 25. Minute nach der Injektion um 45%, um dann entsprechend der Calorienproduktion allmählich wieder abzufallen. Die Kurve der Ventilationsgröße erfährt nur in Versuchsperiode 5 durch das Hecheln des Tieres eine vorübergehende Störung.

Tabelle II.

Versuch 5. b) Dextroseversuch.

Dat. 6. IV. 1921. Bar. 758,9.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation p. Min. Liter	Lufttemp. Grad	Zahl d. Atemzüge p. Min.	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Qu.	g-Cal. pro Min.	Rekt.-Temp. Grad	Bemerkungen
1	25—36 vor	1,03	19	14	3,861	36,22	50,27	0,720	236,42	39	
2	21—38 nach	1,83	19	14	3,937	64,10	67,64	0,947	336,98	38,8	Inv. Inj. 35 g
3	40—50 „	1,61	19,5	15	4,119	60,23	64,27	0,937	319,38	—	Dextrose in
4	104—114 „	1,28	20	13	3,915	45,39	51,74	0,877	253,35	39,6	70 ccm aq.
5	152—163 „	1,06	20	—	4,000	38,41	46,09	0,833	223,20	39,6	
6	224—234 „	1,10	20	14	4,021	40,13	49,59	0,807	238,50	39,6	
7	410—421 „	1,03	20,5	14	3,820	35,61	53,54	0,665	—	39,1	
8	466—477 „	0,89	20,5	14	4,037	51,64	47,63	0,685	221,96	38,8	

Max. Zunahme der Wärmeproduktion 41,9%. Zuckerausscheidung in den ersten 20 Stunden in 400 ccm Harn 1,5% = 6 g D.

Versuch 5 (Tab. II): Der Versuch wurde ganz analog dem ebenbeschriebenen durchgeführt. Es wurde lediglich insofern eine Ergänzung angebracht, als auch noch in der 7. Stunde nach der Injektion die Untersuchungen weiter-

geführt wurden. Der Versuch verläuft ungestört. Das Tier verhält sich während der langen Dauer des Versuchs, der sich über den ganzen Tag erstreckt, absolut ruhig, es wird in den Zwischenperioden in einem Stoffwechselkäfig zum Auffangen des Harns gehalten. Die Injektion gelingt störungslos innerhalb weniger Minuten. Es zeigt sich genau wie im Versuch 4 in der 21. bis 38. Minute p. inject. trotz der erheblichen Zunahme der Ventilationsgröße eine Zunahme des prozentischen CO_2-Gehalts der Exspirationsluft. Die absoluten Werte für CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch steigen erheblich an, die CO_2-Produktion mehr als der O_2-Verbrauch, woraus eine Steigerung des R.Q. 0,720 als Nüchternwert auf 0,947 resultiert. Bereits in der 40. bis 50. Minute p. inject. sind CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch wieder im Absinken, auch der R.Q. bereits im Fallen. In der 152. Minute ist für CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch der Ausgangswert wieder erreicht, der R.Q. liegt aber noch höher als der Nüchternwert und ist erst in der 7. Stunde p. inject. beim Ausgangswert angelangt. Die sich aus O_2-Verbrauch und R.Q. ergebende Wärmeproduktion zeigt genau wie im ersten Versuch in der ersten Periode p. inject. ihr Maximum mit einer Steigerung von 41,9% gegenüber dem Nüchternwert. Wie im Versuch 4 ist letzterer in der 3. Stunde p. inject. wieder erreicht. Eine sehr gleichmäßige Kurve ergeben die Werte für die Ventilationsgröße. Sie verläuft nahezu parallel der Calorienproduktion. Daß die Ventilation nicht vollkommen zur Regulation ausgereicht hat, zeigt die geringe Steigerung der Körpertemperatur um etwa 0,6°. Von den injizierten 35 g Dextrose werden im ersten Versuch 4,5 g, im zweiten Versuch 6 g wiedergefunden, nach Werten, die sich aus der polarimetrischen Untersuchung des Harns ergeben. Diese geringe Ausscheidung stimmt mit den Erfahrungen der Literatur gut überein.

Tabelle III.

Versuch 6. a) Lävuloseversuch.

Dat. 24. IV. 1921, Bar. 765,7.

Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation pro Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge pro Min.	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Q.	g-Cal. pro Min.	Bemerkungen
51—36 vor	1,32	23	13	3,225	38,31	49,42	0,775	235,74	
17—24 nach	2,36	23,6	19	3,605	76,32	78,56	0,971	383,72	Inv. Inj. 25 g Lävulose in 50 ccm aq.
37—49 „	2,00	23,6	20	3,511	62,99	65,79	0,957	328,58	
95—110 „	1,67	—	—	2,985	44,72	56,15	0,796	269,3	
117—131 „	1,63	24	—	3,537	51,61	56,64	0,911	279,7	
132—157 „	1,63	—	—	3,529	51,50	58,41	0,881	286,28	

Max. Steigerung der Calor.-Prod. = 67,6%.

Versuch 6 (Tab. III): In diesem Versuch gelangten nur 50 ccm der vorbereiteten Lösung zur Injektion, so daß im ganzen nur 25 g Lävulose infundiert wurden. Bemerkenswerterweise steigt in diesem Versuch trotz der geringeren Menge injizierten Zuckers die absolute Menge des Verbrauchs der CO_2 fast auf

das Doppelte des Nüchternwertes und auch die verbrauchte O_2-Menge erheblich höher an als in den beiden Dextroseversuchen. Während der ganzen Dauer des Versuchs wird der Ruhewert des verbrauchten O_2 nicht wieder erreicht, der Versuch allerdings nur bis zu der 157. Minute nach der Injektion ausgedehnt. Der R.Q. steigt in der 17. bis 24. Minute auf den für die Zuckerverbrennung charakteristischen Wert von 0,971 an und hält sich noch in der 157. Minute auf einem Wert von 0,881. In der 95. bis 110. Minute gefundene niedrige Wert von 0,796 ist durch die auffallend geringe CO_2-Produktion dieser Periode zurückzuführen, für die ich keine Erklärung habe. (Vielleicht ist in dieser Periode die Atmung vorübergehend oberflächlicher gewesen und dadurch ein CO_2-Verlust entstanden.) Wird diese Periode ausgeschaltet, so ergibt sich sowohl für die Werte der CO_2-Produktion als auch des O_2-Verbrauchs eine von der zweiten Periode an langsam abfallende Kurve. Die sich aus dem R.Q. und dem O_2-Verbrauch errechnende Calorienproduktion steigt bemerkenswerterweise trotz geringerer Zuckermenge stärker an als in den beiden Dextroseversuchen, nämlich um 67% des Nüchternwertes. Dieser höheren Calorienproduktion entsprechend ist auch die Ventilationsgröße stärker gesteigert, auf 2,36 Liter pro Minute, als in den beiden Dextroseversuchen, in welchem der Wert von 2 Litern pro Minute nicht erreicht wird.

Tabelle IV.

Versuch 7. b) Laevuloseversuch.

Dat. 8. IV. 1921. Bar. 762,8.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation p. Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Qu.	g-Calor. pro Min.	Rekt.-Temp. Grad	Bemerkungen
1	55—46 vor	1,05	19,5	12	3,744	35,85	51,06	0,702	238,96	38,8	
2	17—24 nach	2,50	20	26	3,969	90,34	87,91	1,027	447,71	38,8	Inv. Inj. 35 g
3	38—45 „	2,17	20	24	3,011	89,83	93,90	0,957	468,94	39,4	Laevulose in
4	115—125 „	1,96	20	16	4,161	81,60	74,08	1,002	373,9	39,4	70 g aq.
5	199—206 „	1,64	20	18	3,902	58,22	64,68	1,903	322,03	38,8	
6	256—266 „	1,32	20,4	18	3,903	46,82	54,59	0,857	265,92	—	
7	450—463 „	0,92	20	12	4,127	34,57	46,78	0,739	221,1	—	
8	475—488 „	1,10	19,4	12	3,903	39,19	53,16	0,754	252,2	—	

Max. Steigerung d. Calor.-Prod. = 87,3%.

Versuch 7 (Tab IV): Der Versuch wurde in gleicher Weise wie der vorige durchgeführt, die Lävulosemenge dagegen auf 35 g wie in den Dextroseversuchen erhöht und der Versuch bis 8 Stunden nach der Injektion weitergeführt. Wie in dem ersten Lävuloseversuch steigen auch hier sowohl die relativen wie die absoluten CO_2-Werte nach der 17. bis 24. Minute p. inject. auf ihr Maximum an und erreichen Zahlen, die weit über den in den Dextroseversuchen erhaltenen liegen. Auch die absoluten Werte für den verbrauchten O_2 liegen weit über den Werten der Dextroseversuche. Die Werte für den O_2-Verbrauch erreichen in der 4. Stunde

nach der Injektion wieder den Ausgangswert, während in dieser Zeit die CO_2-Produktion noch höher liegt. Der R.Q. erreicht den Wert 1 und liegt noch in der 4. Stunde über 0,9. So lange ist also offenbar die Verbrennung der parenteral injizierten Lävulose weitergegangen. Die aus dem R.Q. und O_2-Verbrauch errechneten Calorien erreichen mit einer Steigerung der Wärmemehrproduktion von 87,3% in der 17. bis 24. Minute p. Lävuloseinfusion ihr Maximum und in der 5. Stunde den Ruhewert. Die gewaltige Steigerung der Wärmeproduktion findet in einer entsprechenden Vermehrung der Ventilation ihren Ausdruck. Sie steigt von einem Minutenvolumen von 1,05 in der 17. bis 24. Minute p. inject. auf 2,50 Liter. Daß trotz der gewaltig gesteigerten Ventilation das Wärmegleichgewicht nicht vollkommen erhalten blieb, zeigt die geringe Temperatursteigerung von 0,6° in der 38. bis 45. Minute p. inject. Auch hier laufen wie in den Dextroseversuchen die Kurven für Ventilationsgröße und Calorienproduktion annähernd parallel.

Tabelle V.

Versuch 8. a) Milchzuckerversuch.

Dat. 4. IV. 1921, Bar. 753,4.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation pro Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Q.	g-Calor. pro Min.	Bemerkungen
1	19—9 vor	1,27	17,5	13	3,825	44,34	54,32	0,816	261,86	
2	40—50 nach	1,56	18,5	15	3,947	55,91	62,62	0,892	307,78	Inv. Inj. 35 g
3	57—69 „	1,45	18,5	15	3,529	46,61	52,23	0,893	256,70	Milchzucker in
4	78—88 „	1,60	19	19	3,543	51,35	58,30	0,880	285,67	70 ccm aq.
5	159—166 „	1,60	19,5	—	3,778	54,62	60,79	0,898	299,2	
6	250—260 „	1,38	20	—	4,127	51,36	60,52	0,848	294,16	
7	451—464 „	1,19	18,25	13	3,803	46,61	57,12	0,721	268,66	
8	475—488 „	1,15	18,5	11	3,922	45,99	56,40	0,726	265,62	

Ausscheidung mit den ersten 1010 ccm Harn 15,15 g. Ausscheidung mit den späteren 590 ccm Harn 0,0 g. Max. Zunahme der Wärmeproduktion = 17,6%.

Versuch 8 (Tab. V): In den folgenden 4 Versuchen wurde nach den landläufigen Erfahrungen parenteral unangreifbarer Zucker injiziert. Im Versuch 8 wird eine Lösung von 35 g Milchzucker in 70 ccm Aq. intravenös appliziert. Die Injektion gelingt ohne Störungen. Leider liegt der Nüchternwert des R.Q. in diesem Falle höher als sonst, was vielleicht dadurch zu erklären ist, daß das Intervall zwischen der letzten Nahrungsaufnahme und dem Versuchsbeginn (im allgemeinen 19 Stunden) in diesem Falle gegen meine Absicht etwas kleiner ausfiel. Das Wesentliche wird aber aus dem Versuche deutlich. Weder die CO_2-Produktion noch der O_2-Verbrauch erreichen die in den Vorversuchen erhaltenen Werte. Es ist zwar auch in dem Milchzuckerversuch in der 40. bis 50. Minute p. inject. zu einer deutlichen Steigerung beider Faktoren gekommen, und zwar steigt der CO_2-Wert stärker als der O_2-Wert

an, so daß eine geringe Steigerung des R.Q. resultiert. Der Wert für den R.Q. erreicht aber in keiner Zeit wie in den Vorversuchen die Zahl 0,9. Bemerkenswerterweise ist aber noch in der 5. Stunde der Ruhewert nicht wieder gefunden, sondern erst in der 7. Stunde liegen die Werte für den R.Q. etwa bei dem Nüchternwert. Die aus O_2-Verbrauch und R.Q. errechneten Calorien sind in der auf die Injektion folgenden Periode, die leider infolge einer Störung bei der ersten Gasentnahme etwas später liegt als in den Vorversuchen um 17,6% vermehrt. Da von den 35 g injizierten Milchzucker nur 15,15 g im Harn wiedererscheinen, ist die nächstliegende Deutung des Versuches die, daß ein Teil des parenteral applizierten Milchzuckers bei dieser Hündin in die Verbrennung eingetreten ist. Zu dieser Auffassung führt mich vor allem auch die Tatsache, daß die Calorienproduktion auch noch in der 5. Stunde nach der Infusion über dem Nüchternwert liegt, zu einer Zeit also, in der rein osmotische Faktoren nach meinen am Menschen gemachten Erfahrungen längst ausgeglichen sind.

Versuch 9 (Tab. VI): Einen ganz ähnlichen Verlauf nimmt der auf Tab. VI wiedergegebene Versuch 9. Hier wurden in gleicher Weise 35 g Milchzucker in 70 ccm Aq. infundiert. Auch in diesem Versuche kommt es zu einer geringen Zunahme der CO_2-Produktion, der O_2-Verbrauch dagegen ist gegenüber dem Ruhewert nicht erhöht. Wie im Vorversuche ändert sich der R.Q. nach der Injektion in deutlicher Weise und erreicht in der 4. Stunde

Tabelle VI.

Versuch 9. b) Milchzuckerversuch.

Dat. 26. IV. 1921. Bar. 766,7

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation p. Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Qu.	g-Calor. pro Min.	Rekt.-Temp. Grad
1	66—48 vor	1,20	20	15	3,471	38,04	57,85	0.657	212,57	38,3
2	22—37 nach	1,38	21	21	3,520	44,24	52,53	0,842	254,93	—
3	55—69 „	1,45	21,5	—	3,576	47,07	55,76	0.844	270,74	38,8
4	87—103 „	1,50	21,6	18	3,324	45.27	52,61	0,860	256,46	38,7
5	213—228 „	1,64	21,6	15	2,927	43,58	49,25	0,884	241,57	39,1
6	247—265 „	1,46	21,4	19	3,078	40,85	49,82	0,819	240,38	39,2
7	468—490 „	1,22	21	17	3,196	35,51	48,03	0,739	226,98	38,2
8	505—533 „	1,07	21	12	3,538	34,47	47,60	0,724	224,05	38,2

Max. Zunahme der Wärmeproduktion = 27,6%.

p. inject. sein Maximum. In dieser Beobachtung liegt ein wesentlicher Unterschied gegenüber den Lävulose- und Dextroseversuchen, in denen ausnahmslos die erste Periode p. inject. die höchsten Werte für den R.Q. aufwies. Errechnet man aus O_2-Verbrauch und R.Q. den Calorienverbrauch, so ist hier eine geringe Steigerung gegenüber dem sehr niedrig liegenden Nüchternwert unverkennbar. Das Maximum liegt in der 2. Stunde p. inject. mit 27,3%. In beiden Milchzuckerversuchen zeigen die Kurven für den R.Q. und die Calorienproduktion einen wesentlich flacheren Verlauf als die in den Dextrose- und Lävuloseversuchen gewonnenen. Mit aller Vorsicht

sind diese Ergebnisse vielleicht so zu deuten, daß der Milchzucker zwar auch zum geringen Teil in die Verbrennung eintritt, worauf die allmähliche Steigerung des R.Q., vor allem in Versuch 9, hindeutet, daß aber diese Verbrennung wesentlich langsamer vor sich geht als in den Dextrose- und vor allem in den Lävuloseversuchen, in welchen sie gewissermaßen explosionsartig abläuft. Interessanterweise ist auch in den Milchzuckerversuchen eine Zunahme der Ventilationsgröße aufgetreten, die zwar entsprechend der geringeren Calorienproduktion lange nicht die Werte erreicht, welche nach der Infusion leicht verbrennbarer Zuckerarten erhalten wurden, welche aber deutlich außerhalb der Fehlergrenzen der Beobachtung liegen.

Tabelle VII.

Versuch 10. a) Rohrzuckerversuch.

Dat. 1. IV. 1921, Bar. 761. 8.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation pro Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 der Exspir.-Luft. %	Pro Minute ccm CO_2	Pro Minute ccm O_2	R. Q.	g-Calor. pro Min.	Bemerkungen
1	61—43	1,33	21	19	3,004	36,15	55,12	0,654	254,7	Inj. 10^h 35′ beendet.
2	13—28	1,50	21,5	18	3,422	46,45	62,47	0,743	295,5	35 g Rohzucker in
3	38—55	1,40	22	16	3,670	46,26	58,87	0,785	281,6	70 aq.
4	69—86	1,34	22	16	3,724	44,93	56,42	0,796	270,61	
5	143—160	1,26	22,5	18	3,634	41,09	56,09	0,732	264,52	
6	236—255	1,20	22	19	3,699	39,96	55,17	0,723	259,64	

Max. Zunahme der Wärmeproduktion 16,0%.

Versuch 10 (Tab.VIII): In den folgenden beiden Versuchen wird 35 g Rohrzucker in 50 proz. Lösung appliziert. Versuch 10 Tabelle VII zeigt für die absoluten Kohlensäure- und Sauerstoffwerte in der ersten Periode p. inject. eine deutliche, in den späteren wenigstens für die Kohlensäure eine geringe Vermehrung. Der R.Q. ist gegenüber dem Nüchternwert erhöht, zeigt aber nicht die für Zuckerverbrennung charakteristischen Zahlen. Die Calorienproduktion, aus R.Q. und O_2-Verbrauch errechnet, ist in den ersten 3 Perioden gegenüber dem Ruhewert deutlich erhöht und erreicht ihr Maximum in der Zeit unmittelbar nach der Injektion mit einer Zunahme von 16,0%. Entsprechend der Zunahme der Calorienproduktion hat auch das Atemvolumen eine zwar geringe, aber deutliche Zunahme erfahren, die gleichlaufend mit der Zunahme der Wärmesteigerung abfällt.

Versuch 11 (Tab.VIII): Der zweite Rohrzuckerversuch verläuft dem ersten gleichsinnig. Auch hier ist in der ersten Periode nach der Injektion eine Zunahme der CO_2-Produktion und des O_2-Verbrauchs nicht ausgeblieben. Beide Werte sind in der 3. Stunde annähernd am Ruhewert angelangt. Der R.Q. ist gegenüber dem Ausgangswert wie im Vorversuch wenig erhöht, erreicht aber gleichfalls in keiner Periode den für Zuckerverbrennung charakteristischen Wert von 0,9, sondern hält sich wie im Vorversuch bei 0,8 oder darunter. Die aus R.Q. und O_2-Verbrauch errechnete Calorienproduktion zeigt eine deutliche Zunahme gegenüber dem Nüchternwert mit 26,8%.

Tabelle VIII.

Versuch 11. b) Rohrzuckerversuch.

Dat. 28. IV. 1921, Bar. 767.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilation pro Min. Liter	Lufttemp. Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 der exspir. Luft %	Pro Minute ccm CO_2	Pro Minute ccm O_2	R. Q.	g-Calor. pro Min.	Rekt. Temp.	Bemerkungen
1	50—30 vor	1,0	19,4	13	3,626	33,30	44,62	0,746	211,16	38,1	Injektion $10^h 35'$ beendet. 85 g Rohrzucker in 70 ccm
2	34—18 nach	1,33	19,4	19	3,760	45,92	55,37	0,829	267,83	38,1	
3	75—54 „	1,20	19,6	15	3,737	41,07	52,81	0,777	252,07	38,6	
4	111—90 „	1,19	19,6	14	3,719	40,61	51,47	0,789	246,42	39,1	
5	155—132 „	1,23	20,0	15	3,485	39,25	48,94	0,802	235,08	38,7	
6	249—225 „	1,06	20,0	13	3,576	34,71	47,45	0,731	223,78	38,9	
7	494—516 „	1,04	20,0	15	3,394	34,08	45,59	0,709	213,73	38,2	

Max. Zunahme der Wärmeproduktion 26,8%.

Diskussion der Zuckerinjektionsversuche.

A priori sind für das weitere Schicksal parenteral injizierter Zuckerarten drei verschiedene Möglichkeiten gegeben: entweder der Zucker tritt in die Verbrennung ein und schützt gleichzeitig anderes abbaufähiges Material vor der Oxydation. In diesem Fall braucht eine merkliche Veränderung des O_2-Verbrauchs nicht in die Erscheinung zu treten, sondern es nähert sich lediglich der respiratorische Quotient dem für die Kohlenhydratverbrennung charakteristischen Wert 1. Zweitens könnte der Zucker verbrannt werden und außerdem die Verbrennung anderer den Ruheumsatz bestreitender Substanzen weitergehen. Dieses Ereignis würde sich in der Steigerung der Wärmeproduktion bei gleichzeitiger Steigerung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Produktion äußern. Der respiratorische Quotient wird sich nach Maßgabe der quantitativen Beteiligung der Kohlenhydrate an der Verbrennung verändern. Drittens aber könnte eine Verbrennung des parenteral injizierten Zuckers überhaupt ausbleiben und derselbe zum Teil als Glykogen deponiert, zum Teil unverändert ausgeschieden werden. Auch für diesen Fall ist wegen der vermehrten Herz- und Nierenarbeit, mit einer wenn auch geringen Steigerung der Wärmeproduktion zu rechnen, eine wesentliche Änderung des respiratorischen Quotienten aber nicht zu erwarten. Eine unvoreingenommene Betrachtung der Resultate führt unbedingt zu dem Schluß, daß der zweite Fall Ereignis geworden ist, nämlich die Dextrose sowohl wie die Lävulose in die Ver-

brennung eingetreten sind unter Vermehrung der Gesamtwärmeproduktion. Ich würde dieses Resultat einer gewissermaßen luxuriierenden Calorienproduktion nicht besonders hervorheben, wenn ihm nicht eine prinzipielle Bedeutung zukäme und nicht von autoritativer Seite unter im wesentlichen gleicher Versuchsanordnung entgegengesetzte Auffassungen geäußert wurden. Zuntz und v. Mehring[1]) haben in ihren Versuchen am Kaninchen von Zuckerarten lediglich Dextrose injiziert. Sie kommen zu dem Resultat, daß bei direkter Einführung ins Blut der Zucker ohne wesentlichen Einfluß auf den O_2-Verbrauch bleibe. Die CO_2-Ausscheidung ändere sich in dem Sinne, wie es der Verbrennung dieser Substanz durch die konstant bleibende O_2-Aufnahme entspräche. Die Autoren experimentierten am Kaninchen. In ihren sämtlichen Protokollen sind mehr oder weniger starke Bewegungen der Tiere verzeichnet, so daß die Ausschläge sehr häufig durch den Mehrverbrauch des O_2 während der Muskeltätigkeit verschleiert werden. Der einzige einschlägige Versuch ergibt eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 4%, sie glauben diese Steigerung nicht durch die Zuckerverbrennung, sondern lediglich durch gesteigerte Bewegungen des Tieres erklären zu sollen, und stützen sich bei dieser Auffassung auf Untersuchungen von Wolfers[2]), der unter Leitung von Zuntz das gleiche gefunden habe. Wolfers teilt drei Traubenzuckerinjektionsversuche am Kaninchen mit, von denen zwei mit einer Steigerung, einer dagegen mit einer Verminderung des O_2-Verbrauches ablief. Bei diesem letzteren ist offenbar die intravenöse Injektion mißlungen, es ist nämlich in dem Protokoll vom 5. und 6. II. 1881 vermerkt: den Traubenzucker, weil, wie er meint, der „Die Injektionslösung floß 5 Minuten nicht ein." Diesen fehlerhaften Versuch zieht Wolfers mit den zwei übrigen zusammen und kommt zu dem Resultat, daß im Mittel von allen dreien ein Minus von 3% des aufgenommenen O_2 zu verzeichnen sei. Er bestätigt demgemäß die Angaben von Mehring und Zuntz, daß nach Vermehrung des Vorrats von Kohlenhydraten im Blute der Tiere der O_2-Verbrauch keine Steigerung erfährt, trotzdem die zu-

[1]) Zuntz und v. Mehring, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **32**, 173. 1883.

[2]) Wolfers, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **32**, 222. 1883.

geführten Kohlenhydrate wenigstens zu einem großen Teile der sofortigen Verbrennung unterliegen. Meine Versuche wurden an einem gut dressierten Tiere, welches unter einer Decke liegend unangebunden ruhig und gleichmäßig atmete, ohne Bewegungen zu machen, durchgeführt. Wie gleichmäßig sich unter solchen Bedingungen die Verhältnisse gestalten, geht aus einer Zusammenstellung der Ruhe-Nüchternwerte auf Tabelle IX hervor. Es

Übersichtstabelle IX über die Nüchterwerte.

Vers.-Nr.	Versuchsdatum 1921	Ventilation Liter pro Min.	Lufttemperatur Grad	Atemzüge p. Min.	CO_2 der Exspir.-Luft %	Pro Minute ccm CO_2	Pro Minute ccm O_2	R. Q.	g-Cal. pro Min.
4	22. III.	1,31	21	—	3,518	42,96	61,08	0,703	285,93
5	6. IV.	1,03	19	14	3,861	36,22	50,27	0,720	236,42
6	24. IV.	1,32	23	13	3,225	38,31	49,42	0,775	235,74
7	8. IV.	1,05	19,5	12	3,744	35,85	51,06	0,702	238,96
8	4. IV.	1,27	17,5	13	3,825	44,34	54,32	0,816	261,86
9	26. IV.	1,20	20	15	3,471	38,04	57,85	0,657	212,57
10	1. IV.	1,33	21	19	3,004	36,15	55,12	0,654	254,7
11	28. IV.	1,0	19,4	13	3,626	33,30	44,62	0,746	211,16
12	10. IV.	1,13	19,5	—	3,589	40,55	56,87	0,712	266,8
13	12. IV.	1,12	20,5	—	3,822	38,97	54,60	0,713	256,6
14	14. IV.	1,02	20,0	17	3,781	34,12	47,85	0,713	224,57
15	24. IV.	1,05	16,5	—	3,826	37,31	54,22	0,686	252,6

bestehen nach meinen Untersuchungen die alten Angaben von Voit[1]), nach denen Kohlenhydrate eine Steigerung der Oxydationsprozesse bewirken, unzweifelhaft zu Recht. Die weiter unten mitzuteilenden Arbeitsversuche mit nachfolgender Injektion von Dextrose bringen für diese Auffassung weiteres Material.

Ein Problem, das mich besonders interessierte, war die Deutung der unterschiedlichen Untersuchungsergebnisse bezüglich der stärkeren Calorienproduktion nach Einführung von Lävulose als nach Injektion von Dextrose in die Blutbahn unter sonst gleichen Bedingungen. Dem Kliniker ist die Sonderstellung der Lävulose im Stoffwechsel eine längst geläufige Erscheinung. Minkowski hat die Tatsache entdeckt, daß der pankreasdiabetische Hund und der zuckerkranke Mensch den Fruchtzucker besser ausnutzt als den Traubenzucker, weil, wie er meint, der Fruchtzucker, nicht aber der Traubenzucker unter diesen pathologischen Bedingungen noch glykogenisiert würde. Werden künstliche Schädigungen

[1]) Voit, Zeitschr. f. Biol. **14**, 92. 1878.

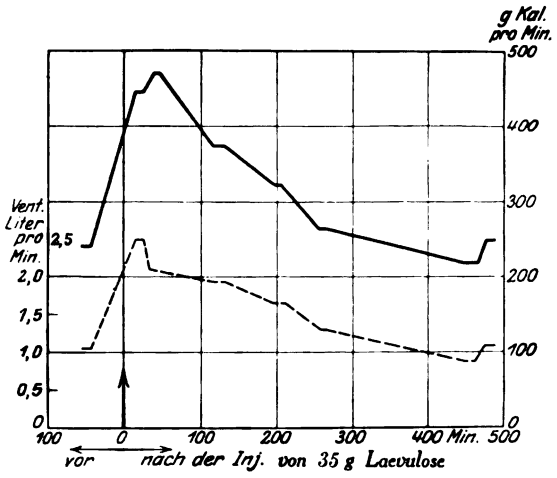
der Leber bei Tieren gesetzt, so kann durch Lävulosedarreichung, wie Neubauer[1]) gefunden hat, noch Glykogenansatz erzielt werden, während Dextrosefütterung dieses Resultat nicht mehr erzielt. Auch in der überlebenden Leber geht nach Versuchen von Emden und Kraus[2]) und von Oppenheimer[3]) die Lävulose bedeutend leichter als die Dextrose in Milchsäure über. Ich glaube nun durch meine Untersuchungen, die in ihrer Anordnung zum großen Teil wenigstens doch eine Umgehung der Leber bedeuten, gezeigt zu haben, daß ohne vorherige Umwandlung der Lävulose in Glykogen der Organismus imstande ist, diese Zuckerform direkt anzugreifen. Es wäre sonst schwer verständlich, wie schon in der 17. Minute p. Inj. sowohl der Sauerstoffverbrauch wie auch die Calorienproduktion eine gewaltige Steigerung in Versuch 6 um 67%, in Versuch 7 um 87% bewirkt, während bei den Dextroseversuchen die Steigerung der Wärmeproduktion nur 24 resp. 42% beträgt.

Diese Sonderstellung der Lävulose im Zuckerhaushalt ist neuerdings von Isaack[4]) einer theoretischen Besprechung unterzogen worden, wobei er entsprechend den älteren Vorstellungen zu dem Resultat einer erleichterten Glykogensynthese für die Lävulose im Gegensatz der Dextrose kommt. Der Autor selbst erwähnt einen Durchblutungsversuch am Hundemuskel, bei welchem ein großer Teil der Lävulose verschwand, ohne daß in der Leber eine entsprechende Zunahme der Dextrose stattgefunden hätte. Emden[5]) erklärt diesen Verbrauch der Lävulose im Muskel mit einer Neubildung von Lactacidogen, wahrscheinlich Lävulosephosphorsäure. Meine Versuche zeigen also in Übereinstimmung mit den ebenerwähnten Befunden, daß der Hundemuskel die Lävulose direkt ohne Milhilfe der Leber verwerten kann. Es mag in diesem Zusammenhange erwähnt werden, daß auch nach Ausschaltung der Leber durch eine Ecksche Fistel Lävulose gut assimiliert wird [De Filippi[6])].

Ein konstanter Befund ist in allen Versuchen, in welchen eine Zunahme der Wärmeproduktion eingetreten ist, die Steigerung der Ventilationsgröße, welche annähernd der Mehrung der Calorienproduktion parallel geht. Für den tracheotomierten Hund

[1]) Neubauer, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **61**, 174. 1909.
[2]) Emden und Kraus, diese Zeitschr. **1**, 45. 1912.
[3]) Oppenheimer, ebenda **32**, 45. 1912.
[4]) Isaack, Med. Klin. **16**, 1207. 1920.
[5]) Emden, zitiert bei Isaack.
[6]) De Filippi, Zeitschr. f. Biologie **50**, 38. 1908.

ist die Vermehrung der Atemgröße der einzige ihm verbliebene Entwärmungsmechanismus, von welchem er einen prompten Gebrauch macht. Auf der beigegebenen Kurve sind die Versuchsdaten vom 8. IV. 1921 graphisch dargestellt. Es zeigt sich, daß die Kurve der Ventilationsgröße mit der der Calorienproduktion nahezu gleichläuft.



Versuch Nr. 7.
—— g Kal. pro Min. ····· Vent. Liter pro Min.

Arbeitsversuch 12: Auf Tabelle X gebe ich zunächst eine Übersicht über die Wirkung der Arbeit auf den Ruheumsatz beim Hunde. Der Hund kam in dem Versuch 12 und 13 nüchtern, im Versuch 14 nach einem Hungertag, im Versuch 15 nach 2 Hungertagen auf eine Laufbahn, auf welcher er für eine Stunde arbeitete. In den ersten beiden Versuchen betrug die Steigerung 33% des Weges, in den folgenden Versuchen 43,3%. Es wurden in der 1stündigen Arbeitszeit zwischen 1012 und 1372 m bei

Tabelle X.

Versuch 12. Arbeitsversuch 1.

Dat. 10. IV. 21.

Nr.	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventilat. pro Min. Liter	Lufttemperatur Grad	Atemzüge	CO_2 d. Exspir.-Luft %	Pro Minute ccm: CO_2-Produktion	Pro Minute ccm: O_2-Verbrauch	R. Q.	g-Cal. pro Min.	Rekt. Temp. Grad	Bemerkungen
12a	vor	1,18	19,5	—	3,589	40,55 nicht red.	56,87	0,712	266,8	38,7	Nüchternversuch.
12b	nach	1,16	21	—	3,432	39,81 nicht red.	58,88	0,672	270,8	39,3	Läuft in der Bahn von 9h 30′—10h 30′ 1015 Meter unten bei 33% Steigung.
13a	„	1,12	20,5	—	3,822	38,97	54,60	0,718	256,6	—	Nüchtern.
13b	„	1,36	21,0	—	3,220	39,79	55,53	0,716	260,8	—	1012 Meter bei 33% Steigung.
14a	„	1,02	20,0	17	3,781	34,12	47,85	0,713	224,57	38,7	Nach 1 Hungertag 1372,5 Meter bei 43,2% Steigung.
14b	„	1,32	21,0	20	3,259	37,63	57,35	0,653	264,93	39,3	
15a	„	1,05	16,5	—	3,826	37,31	54,22	0,686	252,2	—	Nach 3 Hungertagen 1080 Meter bei 43,3% Steigung.
15b	„	1,17	17	—	3,519	38,06	59,95	0,634	275,5	—	

der genannten Steigung zurückgelegt. Die Versuche wurden ursprünglich in der Absicht angestellt, um zu erfahren, ob auch nach parenteraler Zuckerinjektion, die auf eine Hunger- und Arbeitsperiode folgt, der Zucker einen Mehrverbrauch an Calorien und eine Steigerung des R.Q. bewirkt, oder ob die entleerten Glykogendepots zunächst aufgefüllt, der Zucker also nicht zur Verbrennung herangezogen würde.

Um in diesen Dingen Klarheit zu haben, mußte zunächst die Wirkung der Arbeit auf das nüchterne Tier allein studiert werden. Bei Betrachtung der Tabelle X zeigt sich mit Ausnahme des Versuchs 13 ein deutlicher Abfall des R.Q., der im Versuch 15, der nach den 3 Hungertagen angestellt wurde, den abnorm niedrigen Wert von 0,634 erreicht. Zur Erklärung für diese Erscheinung sind mehrere Tatsachen in Betracht zu ziehen. Zunächst ist in allen Versuchen regelmäßig nach Beendigung der Arbeit noch eine geringe Vermehrung der Ventilation gegenüber der Ruhe festzustellen. Eine Mehrventilation, die während der Arbeit erklärlich ist, ist für die Zeit nach der Arbeit bei ähnlichen Versuchen schon von Porges und Pibram[1]) gesehen worden. Sie ist bedingt einmal durch die von Zuntz und Geppert[2]) nachgewiesenen während der Arbeit gebildeten Reizstoffe, zweitens durch die Überwärmung des Organismus, welcher bei der Arbeit bei dem tracheotomierten Tier regelmäßig zu beobachten war und noch nach Abschluß der Versuchsperiode nach der Arbeit 0,6° über dem Ruhewert lag. Diese Mehrventilation, die während der Arbeit naturgemäß noch beträchtlich höhere Grade erreicht hat und damit eine übermäßige Lüftung des Körpers unter weitgehender Abgabe der verfügbaren CO_2 bedingte, führt in ihren späteren Auswirkungen zu einer Einsparung von Kohlensäure, die in einem prozentischen Absinken des CO_2-Gehalts der Exspirationsluft in allen meinen Versuchen deutlich zum Ausdruck kommt. Zudem soll nach Zuntz und Geppert[3]) und Cohnstein[4]) Körperanstrengungen eine Abnahme der Blutalkalescenz oder anders ausgedrückt eine zunehmende Säuerung des Blutes seine Bindungsfähigkeit für CO_2 verringern. Werden aber nach Abschluß der Arbeit die während derselben gebildeten intermediären Produkte nachträglich oxy-

[1]) Porges und Pribram, diese Zeitschr. **3**, 453, 1907.
[2]) Zuntz u. Geppert, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 189, 1888.
[3]) Zuntz und Geppert, l. c.
[4]) Cohnstein, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **130**, 332. 1892.

diert, so kehrt jetzt die Alkalescenz zur Norm zurück und bietet für die Zurückhaltung der CO_2 bessere Bedingungen. Für die abnorm niedrigen Werte des Versuches 15 ist schließlich noch die Möglichkeit zu diskutieren, daß zum Ersatz des erschöpften Glykogenvorrats sauerstoffreichere Verbindungen (Kohlenhydrate) aus sauerstoffärmeren (Fett) gebildet werden, d. h. ein Teil des aufgenommenen O_2 für solche Umwandlung herangezogen wird, der dann in der ausgeatmeten Kohlensäure nicht mehr wiedererscheint, woraus ein Absinken des R.Q. resultiert.

Wirkung von intravenöser Dextroseinjektion nach voraufgehenden Hunger- und Arbeitsperioden.

In den folgenden Versuchen 13, 14 und 15, die auf den Tabellen XI, XII, XIII wiedergegeben sind, wurde genau wie in den vorhergehenden Untersuchungen dem Tiere 35 g Dextrose in 50 proz. Lösung in die Jugularis injiziert. Versuch 13, Tabelle XI, zeigt, daß 32 Minuten nach der Injektion die absoluten Werte für CO_2-Produktion und O_2-Verbrauch ebenso ansteigen wie in den Versuchen 4 und 5 in der entsprechenden Zeit. Es wird auch nach 1 Stunde nach der Injektion der Ruhewert für den O_2-Verbrauch wieder erreicht, genau wie im Versuch 4 unter den gleichen Bedingungen. Der R.Q. geht über den Wert von 0,891 nicht hinaus, während der Dextroseversuch 4 mit 0,991, im Versuch 5 mit 0,947, sein Maximum erreicht. Das ist aber der einzige Unterschied, der gegenüber den Vorversuchen ohne voraufgehende Arbeit festzustellen ist. Es ist hier aber zu bedenken, daß die erste Versuchsperiode nach der Injektion erst in der zweiten halben Stunde nach Einfließenlassen der Dextroselösung stattfand, da die erste Gasentnahme mißglückte. Das Verhalten der Calorienproduktion zeigt gegenüber den Versuchen ohne Arbeit keinen wesentlichen Unterschied, die maximale Steigerung gegenüber dem Wert nach Abschluß der Arbeit

Tabelle XI.

Versuch 13. Arbeitsversuch 2 (nach einem Hungertag).

Dat. 12. IV. 1921, Bar. 764,5.

Nr.	Absolute Zeit	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventil. pro Min. Liter	Luft-temp. Grad	Atemzüge	CO % der Exspir.-Luft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R.Q.	g-Cal. pro Min.	Bemerkung
1	9h 11′— 9h 23′	159—137 vor	1,12	20.5	—	3,822	38,97	54.60	0,713	256,6	Nüchternver…
2	10h 53′—11h 07′	47— 33 „	1,36	21	17	3,220	39,79	55.53	0,716	260,8	Läuft i. d. …
3	12h 12′—12h 19′	32— 40 nach	1,76	20,5	18	3,512	56,27	63,12	0,891	310,1	von 9h 30′ …
4	12h 41′—12h 57′	66— 82 „	1,48	21	—	3,338	45,43	54.76	0.829	264,8	10h 30′ …
5	1h 52′— 2h 06′	131—145 „	1,47	21	—	3.410	45,51	55.79	0,815	268,9	b. 33% …
6	2h 53′— 3h 12′	192—212 „	1.18	22,5	—	3,730	39,97	54.64	0,731	257,7	Inj. v. 35 g …
7	5h 51′— 6h 06′	370—396 „	1.35	22	—	3,230	39.39	55.55	0.709	260,4	trose in …
8	6h 20′— 6h 40′	400—420 „	1,34	22	—	3,199	38,72	53.54	0,723	251,9	11h40′ …

Maximale Steigerung der Wärmeproduktion gegenüber Periode 2 = 18,9%.

Tabelle XII.

Versuch 14. Arbeitsversuch 3 (nach 1 Hungertag).

Dat. 14. IV. 1921. Bar. 741,7.

Nr.	Absolute Zeit	Min. vor resp. nach d. Infektion	Ventil. pro Min. Liter	Luft-temp. Grad	Atemzüge	CO_2 der Exp.-Luft %	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Q.	g-Cal. pro Min.	Rekt. Temp. Grad	Bemerkungen
1	9h 3′—9h 27′	162—128 vor	1,02	20	17	3,781	84,12	47,85	0,718	224,57	38,7	Arb. v. 9h 40′ bis 10h 40′ in der Laufbahn 1372,5 m b. 48,3% Steigung. Inj. 35 g Dextrose in 70 aq. 11h 45′ beendet.
2	10h 53′—11h 14′	52—31 „	1,31	20	20	3,259	87,63	57,35	0,658	264,93	39,3	
3	11h 55′—12h 10′	10—25 nach	1,96	21	20	3,925	67,71	69,98	0,967	350,35	38,5	
4	12h 24′—12h 35′	39—50 „	1,56	21	18	4,123	56,62	63,11	0,897	310,56	—	
5	1h 55′— 2h 15′	130—150 „	1,12	21	12	3,878	38,11	51,86	0,735	244,84	39,6	
6	2h 36′— 2h 52′	165—187 „	1,12	21	14	3,807	37,54	48,94	0,767	232,96	39	
7	5h 45′— 6h 7′	360—382 „	0,968	20	11	4,028	34,56	51,70	0,668	239,77	38,8	
8	6h 25′— 6h 36′	395—406 „	0,946	20	—	4,372	36,75	51,01	0,706	243,66	—	

Maximale Steigerung der Wärmeproduktion gegenüber Periode II = 32,6%.

Tabelle XIII.

Versuch 15. Arbeitsversuch 4 (nach 3 Hungertagen).

Dat. 24. IV. 1921, Bar. 763.

Nr.	Absolute Zeit	Minuten vor resp. nach der Injektion	Ventil. pro Min. Liter	Luft-temp. Grad	Atemzüge	CO % der Exspir.-Luft	Pro Min. ccm CO_2	Pro Min. ccm O_2	R. Q.	Cal. p. Min. g	Bemerkungen
1	9h 43′—9h 56′	122 -109 vor	1,05	16,5	—	3,826	37,31	54,22	0,686	252,6	Arb. v. 10h 3′—11h i. d. Laufbahn 1080 m bei 43,3% Steigung.
2	11h 14′—11h 23′	31—22 „	1,17	17	—	3,519	38,06	59,95	0,634	275,54	Inj. v. 35 g Dextrose in 70 aq. 11h 45′ vollendet.
3	12h 5′—12h 21′	20— 36 nach	1,64	17	15	3,927	59,53	66,81	0,891	328,25	
4	12h 30′—12h 44′	45— 59 „	1,66	17,5	16	3,311	50,66	55,34	0,936	274,97	
5	12h 59′— 1h 17′	74— 92 „	1,38	17,5	14	3,882	49,37	54,07	0,911	266,98	
6	4h 10′— 4h 30′	265—285 „	0,91	18	—	3,938	32,99	47,97	0,688	223,4	
7	5h 2′— 5h 35′	317—350 „	0,93	17	11	3,922	33,72	47,78	0,706	223,84	

Maximale Steigerung der Wärmeqroduktion gegenüber Periode 2 = 19,1%.

beträgt 18,9%, liegt also nur wenig unter dem Versuch 4 mit 24,7%. Im übrigen zeigt der Abfall der O_2-Produktion im wesentlichen das gleiche Verhalten wie in den Ruheversuchen 4 und 5. Während der R.Q. in der 2. Stunde nach der Injektion in den Ruheversuchen in der Nähe des Wertes 0,9 liegt (Versuch 4 0,909, Versuch 5 0,877), liegen in der entsprechenden Zeit in den Arbeitsversuchen die Werte bei Versuch 13 0,829, Versuch 14 0,735 und Versuch 15 0,911. In den Versuchen 13 und 14 ist die Tendenz des R.Q., dem Nüchternwert rascher zuzustreben als in den Ruheversuchen, unverkennbar, während im Versuch 15, in welchem nach dem Voraufgehen dreier Hungertage eine Verwendung der injizierten Dextrose für die Glyko-

genspeicherung unter Vermeidung einer luxuriierenden Calorienproduktion am ehesten zu erwarten war, der R.Q. in der 2. Stunde noch bei 0,911 liegt und damit eine weitergehende Zuckerverbrennung anzeigt. Das Maximum des O_2-Verbrauchs liegt in allen 3 Arbeitsversuchen in der ersten Periode nach der Dextroseinjektion genau wie in den Ruheversuchen. Auch das Wiederabklingen des vermehrten O_2-Verbrauchs ist in den Versuchen 14 und 15 in der 3. Stunde (Versuch 14) resp. 1 Stunde (Versuch 15) wieder erreicht. Die maximale Steigerung der Wärmeproduktion gegenüber der Periode 2 nach der Arbeit beträgt in

Versuch	13	18,9%
„	14	32,6%
„	15	19,1 „ .

Dabei ist zu bemerken, daß die erste Periode p. inject. im Versuch 14 der Injektion am nächsten lag (10. bis 25. Minute p. inject.).

Zusammengefaßt ergeben die Arbeitsversuche ein eindeutiges Resultat: voraufgehende Nahrungsentziehung und ermüdende Muskelarbeit schützt intravenös injizierte Dextrose in der Menge von 0,5 g pro Körperkilo nicht vor der Verbrennung. Diese Tatsache ist belegt durch das Ansteigen des respiratorischen Quotienten von den extrem niedrigen Werten, wie sie nach anstrengender Arbeit, verbunden mit voraufgehender Arbeitsentziehung, gefunden werden, auf Werte von maximal 0,967, die mit Sicherheit ein Eintreten der Dextrose in die Verbrennung andeuten. Ferner ist sicher, daß der Eintritt der parenteral injizierten Dextrose in die Verbrennung unter den angegebenen Bedingungen voraufgehender Muskelarbeit nicht nur zur Deckung des calorischen Bedarfs herangezogen wird, sondern daß es auch nach Ausschüttung der Glykogendepots zu einer luxiriierenden Calorienproduktion nach intravenöser Glucoseinjektion kommt.

Es ist schließlich die Frage zu erörtern, ob die Injektion hypertonischer Lösungen an sich eine Steigerung des Energieumsatzes zur Folge haben könne. Von Raeder[1]) wurde gezeigt, daß Infusionen von NaCl-Lösungen eine Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels bedingen. Bei stärkeren Konzentrationen fand er nach anfänglicher Steigerung ein Absinken des Stoffwechsels, der durch eine Giftwirkung auf die Zellen und den hohen osmotischen Druck erklärt wird. Die Stoffwechselsteigerung wird

[1]) Raeder, diese Zeitschr. **69**, 257. 1915.

durch die Mehrarbeit der Nieren erklärt. Henriques[1]) hat die Frage der Wirkungen hypertonischer Lösungen auf den Stoffwechsel einer besonderen Untersuchung unterzogen, und als Maß der Stoffwechselveränderung die für die Sauerstoffaufnahme gefundenen Werte benutzt. Er kommt zu dem Resultat, daß die Injektion stark hypertonischer Lösungen mit einer Gefrierpunktdepression zwischen — 1,85 und — 3,70° unter gewissen Verhältnissen eine Abänderung des respiratorischen Stoffwechsels ergibt, daß aber die Wirkung in der Regel eine recht unbedeutende ist. Dieser Autor fand bei der Injektion von Rohrzuckerlösung, deren Konzentration zwischen 25 und 68,4% schwankt, eine Stoffwechselschwankung zwischen 2,9 und 8,7%. Nach Injektion einer 12proz. Harnstofflösung blieb eine Stoffwechselsteigerung aus. Die gefundenen Veränderungen sind zu deuten als Folge vermehrter Herz- und Nierenarbeit oder als Vermehrung der Arbeit der Zellen selbst. Die Herzarbeit muß schon darum gesteigert werden, weil nach Injektion stark hypertonischer Lösung eine bedeutende Vermehrung der Blutmenge stattfindet. Mit den Resultaten von Raeder und Henriques, die im wesentlichen ein negatives Resultat geben, stehen die Befunde von Tangl[2]) und Verzar[3]) in einem gewissen Gegensatz. Verzar fand, daß nach intravenöser Injektion von Kochsalz der Energieumsatz bedeutend erhöht wird. Die Versuchsanordnung war aber so kompliziert, daß die Befunde nicht ohne weiteres als Injektionsfolgen gedeutet werden können (Verwendung curarisierter Tiere, Freilegen der Ureteren mit Einmündung von Kanülen in dieselben, Einbindung eines Hirthleschen Manometers, Freilegung der Vena jugularis). Die für diese Verhältnisse in Frage kommenden eigenen Versuche sind die Milchzuckerversuche Nr. 8 und 9 und die beiden Rohrzuckerversuche 10 und 11. In allen vier Fällen kommt es unmittelbar nach der Injektion der 50proz. Lösungen, die in kurzer Zeit in die Blutbahn injiziert wurden, zu einer vorübergehenden Steigerung des Stoffwechsels, beim Milchzucker um 17,6 resp. 27,6%, beim Rohrzucker um 16 resp. 26,8%. Es ist bemerkenswert, daß in beiden Fällen die Wiederholung des Versuches eine etwas stärkere Steigerung des Stoffwechsels ergab,

[1]) Henriques, ebenda **74**, 185. 1916.
[2]) Tangl, diese Zeitschr. **34**, 1. 1911.
[3]) Verzar, ebenda **41**. 1911.

was mit aller Vorsicht als die Folge einer im geringen Umfange eingetretenen Verbrennung dieser sonst unverbrennlichen Substanzen gedeutet werden kann. Es ist uns ja seit den Untersuchungen von Weinland geläufig, daß nach parenteraler Injektion von Zucker zuckerspaltende Fermente im Blute neu auftreten können. Im übrigen möchten wir in Übereinstimmung mit Raeder und Henriques glauben, daß der Hauptanteil der Stoffwechselsteigerung bei diesen Fällen durch eine Mehrarbeit des plötzlich überlasteten Kreislaufes und der Nieren zwanglos erklärt wird, somit eine indirekte stoffwechselsteigernde Wirkung der Injektion hypertonischer Lösungen vorliegt.

Zusammenfassung.

1. Nach intravenöser Injektion hypertonischer Lävulose- und Dextroselösungen steigt entgegen älteren Angaben der R.Q. bereits in der ersten halben Stunde auf Werte zwischen 0,9 und 1 an, unter gleichzeitiger Vermehrung der Gesamtwärmeproduktion.

2. Das rasche Ansteigen von R.Q. und Calorienproduktion nach Lävuloseinjektion in die Blutbahn scheint dafür zu sprechen, daß der Organismus imstande ist, diese Zuckerart auch ohne vorherige Umwandlung in Glykogen direkt anzugreifen.

3. Die Calorienproduktion steigt nach Lävuloseinjektionen im allgemeinen stärker an als nach Dextroseinjektionen unter sonst gleichen Bedingungen.

4. Nach Injektion der gleichen Menge hypertonischer Rohrzucker und Milchzuckerlösungen in die Blutbahn wird gleichfalls ein geringer Anstieg des R.Q. und der Calorienproduktion beobachtet, jedoch erreichen die Werte in keinem Fall die Höhe der nach Injektion verbrennbarer Zuckerarten erzielten Steigerungen.

5. Diese Steigerung nach Rohr- und Milchzuckerinfusionen ist als eine indirekte osmotische Wirkung der Injektion hypertonischer Lösungen zu deuten und als Folge der durch den Einstrom von Gewebsflüssigkeit in die Blutbahn erhöhten Herz- und Nierentätigkeit zu erklären.

6. Voraufgehende Nahrungsentziehung und ermüdende Muskelarbeit schützt intravenös injizierte Dextrose in der Menge von 0,5 g pro Körperkilogramm nicht vor der Verbrennung. Es kommt trotz Erschöpfung der Glykogendepots zu einer luxierenden Calorienproduktion.

Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. IV.

Über die Bedeutung des Verhältnisses Cholesterin-Lecithin der Körperchenoberfläche für die Stabilität der Blutkörperchensuspension und für die natürliche Hämolyse.

Von

R. Brinkman und **Frl. H. Wastl.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 13. Juli 1921.)

Die Stabilität der Körperchensuspension im Plasma des stillstehenden Blutes wird ganz im allgemeinen von 2 einander entgegenwirkenden Prozessen beherrscht, nämlich von der Oberflächenspannung, welche die Annäherung der Körperchen zu erreichen sucht, und von der elektrischen Ladung, welche die Dispersion der Suspension fördert. Es gibt natürlich noch mehrere Faktoren, welche ebenfalls auf die Stabilitätserhaltung einen Einfluß haben können (Viscosität, Brownsche Molekularbewegung, spezifisches Gewicht), aber für Blutkörperchen werden die erstgenannten Prozesse die Hauptrolle spielen.

Wenn wir nun etwas näher auf das gegenseitige Verhältnis von Oberflächenspannung und elektrischer Ladung der Körperchen eingehen, so geschieht das, um zu betonen, daß es neben dem direkt großen Einfluß der Ladungsänderung doch noch wohl andere Faktoren gibt, die für die Agglutination (-Sedimentation) primär wichtig sind.

Das quantitativ-antagonistische Verhältnis von Oberflächentension und elektrischer Ladung eines suspendierten Tröpfchens wird von Lewis[1]) deutlich angegeben. Die Stabilität einer Suspension ist maximal, wenn die Oberflächenspannung oder besser deren nach innen gerichtete radiale Komponente von der nach

[1]) Lewis, Kolloid-Zeitschr. **5**, 91. 1909.

außen gerichteten elektrischen Kraft ganz aufgehoben wird. Die Wirkung der Oberflächenspannung ändert sich einfach umgekehrt proportional des Tröpfchendurchmessers, die Wirkung der elektrischen Kraft aber ändert sich umgekehrt proportional der vierten Potenz des Durchmessers.

Wenn daher das Tröpfchen kleiner wird und die Dispersität größer, so werden beide entgegengesetzte Kräfte einander gleich, sobald ein bestimmter Durchmesser erreicht ist. Ist also der Radius des Tröpfchens $= r$, die Dichte der elektrischen Ladung $D = \left(\frac{E}{4\pi r^2}\right)$, die Dielektrizitätskonstante des Mediums $= K$, so ist der elektrische Druck nach außen ist $\frac{2\pi D^2}{K}$. Die radiale Komponente der Oberflächenspannung ist $O\,\frac{2O}{r}$. Stabilität besteht also, wenn $\frac{2\pi D^2}{K} = \frac{2O}{r}$, oder wenn wir $D = \frac{E}{4\pi r^2}$ einfüllen, auch $r^3 = \frac{E^2}{16\pi KO}$.

Man ersieht aus dieser Formel, daß die Stabilität von dem Volum der Teilchen, vom Quadrat der Ladung, von der Oberflächentension und von der Dielektrizitätskonstante des trennenden Mediums abhängig ist. Das Volum können wir für den Fall der Blutkörperchensuspension konstant rechnen, es bleiben also in erster Linie Ladung, Oberflächenspannung und Dielektrizitätskonstante.

Wenn also die Kolloide der Körperchenoberfläche näher zu ihrem isoelektrischen Punkt gebracht werden, wie das z. B. bei der Agglutination in Rohrzuckerlösungen der Fall ist [Radsma[1])], oder was nach Fahraeus[2]), Linzenmeyer[3]) u. a.[4]) auch als Ursache der Graviditätsagglutination betrachtet werden muß, so wird die Stabilität der Körperchensuspension kleiner.

Der isoelektrische Punkt der Oberflächenkolloide verschiedener Tiere liegt bei verschiedener [H·]. Nach Radsma[5]) findet man die höchste [H·], bei welcher maximale Agglutination in Rohr-

[1]) Radsma, Arch. neerland. de physiol. **3**, 361. 1919.

[2]) Fahraeus, The suspension. stability of the blood. Stockholm 1921.

[3]) Linzenmeyer, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 169. 1920.

[4]) S. bei Fahraeus, l. c., s. a. Coulter, Journ. of gen. physiol. **3**, 309. 1921.

[5]) Radsma, diese Zeitschr. **89**, 211. 1918.

zuckerlösung auftritt, beim Rinderblut, dann folgen Ziegenblut, Meerschweinchenblut, Menschenblut, Mäuseblut.

Diese Untersuchung der Oberfläche in Rohrzuckerlösung hat gegenüber die Untersuchung in Salzlösung den Vorteil, daß in der ersten Lösung die Oberfläche nicht ausgespült wird, wie das wohl in Salzlösung[1]) der Fall ist. Untersuchungen der Oberfläche von Körperchen, welche in Salzlösung gewaschen sind, wie das vielfach geschah, sind unserer Meinung nach nicht zutreffend, weil die Oberflächenkolloide dann nicht mehr in der ursprünglichen Konzentration anwesend sind. Die obengenannte Reihe geht wohl ungefähr mit der natürlichen Stabilität der verschiedenen Blutarten parallel und ist also eine Anweisung, daß für diese Stabilität der verschiedenen Blutsuspensionen die Ladung der Körperchen wichtig ist.

Für die Möglichkeit der Ladungsänderung muß aber darauf hingewiesen werden, daß nicht nur die ursprüngliche Entfernung vom isoelektrischen Punkt und die Menge der entladenden Substanzen, sondern auch die Adsorbierbarkeit dieser Substanzen von großer Bedeutung ist. Auch Linzenmeyer[2]), der am ausführlichsten den Zusammenhang von Agglutination und Ladung geprüft hat, kommt zu dem Schlusse, daß die Zusammensetzung der Körperchenoberfläche für die Ladungsänderung wichtig ist.

Nun ist diese Oberfläche eine lokale Konzentration von capillaraktiven Substanzen aus Körpercheninnern und Plasma, und als solche nicht absolut konstant, sondern variierend mit der Zusammensetzung des Plasmas. In dieser Hinsicht erscheint uns speziell das Verhältnis $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Lecithin}}$ der Körperchenoberfläche wichtig. Es ist bekannt, daß dieser Quotient im Plasma mit großer Genauigkeit konstant gehalten wird, und daß also auch die betreffende Körperchenhülle von gleichbleibender Zusammensetzung sein muß; andererseits kommen doch experimentell oder pathologisch Abweichungen vor im Sinne einer „nichtkompensierten" Cholesterinämie oder Lecithinämie.

Es ist hierbei noch zu betonen, daß es neben den relativen Konzentrationsänderungen der Phosphatide und Sterine auch

[1]) Brinkman und van Dam, diese Zeitschr. **108**, 35, 52, 61. 1920.
[2]) Linzenmeyer, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 169. 1920.

kolloidchemische Zustandsänderungen dieser Substanzen geben kann, welche funktionell von analoger Bedeutung sind, so z. B. bei den luetischen und metaluetischen Plasmaänderungen.

Schließlich wollen wir noch darauf hinweisen, daß auch der letzte Faktor der oben zitierten Formel, die Dielektrizitätskonstante, mit dem Verhältnis $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Lecithin}}$ zusammenhängt. Wie in der 2. Mitteilung dieser Serie[1]) dargetan wurde, ist das Cholesterin die einzige Substanz, welche die normale Isolation der gewaschenen Körperchen wieder herstellen kann, wenn sie mit der geladenen Objektträgeroberfläche in Berührung kommt. Wenn sich die Körperchen im Blute aneinanderstoßen, so wird das die geladenen Körperchen trennenden Medium von der Oberflächenkondensationszone, mit einer sehr dünnen Schicht Plasma, geformt. Die Dielektrizitätskonstante dieses Mediums ist mit der Stabilität umgekehrt proportional. Auch die Dicke dieser Schicht möchte, nach dem Coulomb'schen Gesetz, ihre Bedeutung haben.

Auch durch diese Überlegungen können wir also vermuten, daß das Verhältnis $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Lecithin}}$ der „Coefficient lipocitique" der französischen Autoren für die Agglutination der Körperchen wichtig ist.

Wenn man die Zustände aufzählt, bei denen es eine erhöhte Senkungsgeschwindigkeit gibt, so findet man in fast allen Fällen eine qualitative oder quantitative Änderung der Lipoidmischung. Die Hypercholesterinämie in der Schwangerschaft ist allgemein bekannt, bei den luetischen und paraluetischen Affektionen findet sich sicher eine kolloidchemische Änderung der Plasmalipoide (vgl. die Reaktionen von Meinicke und Sachs-Georgi) und bei manchen fieberhaften Prozessen, wo erhöhte Agglutination besteht, ist auch die Hypercholesterinämie wichtig (Pneumonie, Typhus).

Eine experimentelle Bestätigung des hier angenommenen Zusammenhanges wurde vor dem Erscheinen unserer Versuche, deren Publikation durch äußere Umstände längere Zeit aufgeschoben werden mußte, von H. Kürten[2]) geliefert, der feststellte, daß der Zusatz einer Cholesterinsuspension zum Blute die Senkungs-

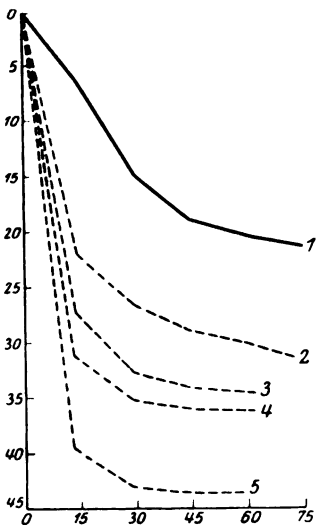
[1]) Brinkman und van Dam, diese Zeitschr. l. c.

[2]) Kürten, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **185**, 248. 1920.

geschwindigkeit steigerte und Lecithinzusatz dagegen dieselbe herabsetzte. Dieser Befund ist aber noch kein direkter Beweis dafür, daß die normalerweise an der Körperchenoberfläche absorbierte Hülle durch seine relative Lipoidzusammensetzung die Agglutination beeinflußt. Für diese letzte Meinung hoffen wir durch die folgenden Versuchsreihen Beweise beizubringen.

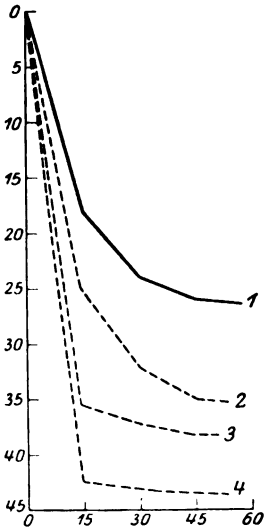
Methodisches zu einer Mikrobestimmung der Senkungsgeschwindigkeit.

Da die Versuche größtenteils mit normalem Menschenblut ausgeführt wurden, war eine Methode erwünscht, bei der eine aus



Kurve I.

(*1*) ♂ Blut; (*2*) Blut + 1/2 Serum; (*3*) Blut + 2/3 Serum; (*4*) Blut + Serum $\overline{aa}$; (*5*) Blut + 2/3 Serum.

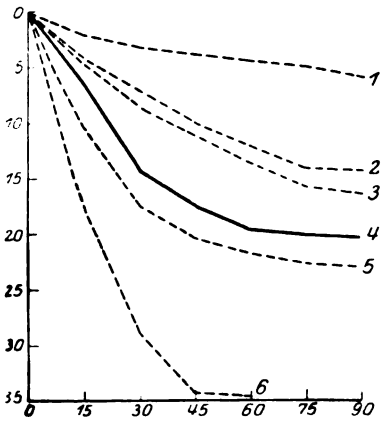


Kurve II.

(*1*) ♀ Blut; (*2*) Blut + 1/3 Serum; (*3*) Blut + 2/3 Serum; (*4*) Blut + Serum $\overline{aa}$.

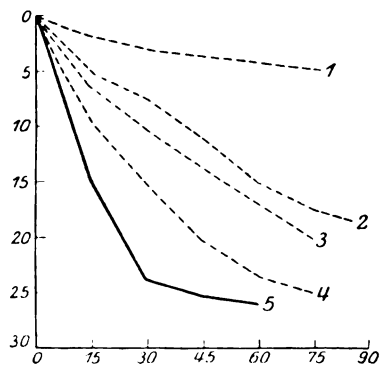
der Fingerbeere zu bekommende Blutmenge genügte. Wenn man in diesem Falle eine genügende Senkungshöhe bekommen will, so ist man zu dem Gebrauch enger Röhrchen gezwungen, deren Capillarität aber Komplikationen einführt, welche man eliminieren muß. Wir arbeiteten deshalb in folgender Weise:

1. Das Blut wurde mittels Capillarpipette aus dem schnell aus der Fingerbeere quellenden Tropfen aufgesaugt und in ein kleines Schälchen mit sehr wenig gesättigter Natriumoxalatlösung gemischt. Es wurde jedesmal 0,01 ccm Oxalatlösung auf 0,25 ccm



Kurve III.

(*1*) Blutkörperchen (♂), 4 × in äquilibrierter Salzlösung gewaschen, und dann in gleicher Konzentration wie normal im Plasma in isotonisch-äquilibrierte Salzlösung suspendiert; (*2*) dieselbe Suspension + $^1/_3$ Salzlösung; (*3*) dieselbe Suspension + $^2/_3$ Salzlösung; (*4*) normales ♂ Blut; (*5*) dieselbe Suspension von (*1*) + Salzlösung aa; (*6*) dieselbe Suspension von (*1*) in starker Verdünnung.



Kurve IV.

(*1*) Blutkörperchen (♀), 4 × in äquilibrierter Salzlösung gewaschen, und dann in gleicher Konzentration wie normal im Plasma in isotonisch-äquilibrierte Salzlösung suspendiert; (*2*) dieselbe Suspension + $^1/_3$ Salzlösung; (*3*) dieselbe Suspension + $^2/_3$ Salzlösung; (*4*) dieselbe Suspension + Salzlösung aa; (*5*) normales ♀ Blut.

Blut genommen. Dann wurde das Blut mittels Glascapillare in kleinen Röhrchen bis zu der Marke gefüllt und diese mit Stanniol gut verschlossen. Diese Röhrchen wurden dann einige Male vorsichtig umgeschüttelt, ohne daß eine Spur Schaum sich bildete und schnell in ein Gestell im Thermostaten gesetzt. Immer wurden Doppelbestimmungen gemacht.

Die Röhrchen hatten eine Länge von 6 cm und alle einen genau gleichen Durchmesser von 1,5 mm und waren mit einer Marke für 0,1 ccm versehen. Am besten fertigt man sich diese an aus langen, engen Glasröhren, welche auf Diameter kontrolliert worden sind.

2. Wenn man verschiedene Körperchensuspensionen miteinander vergleichen will, ist genau auf die Konzentration der Körperchen acht zu geben. Es zeigt sich nämlich, daß, zumal in diesen engen Röhrchen, die Konzentration der Körperchen einen großen Einfluß auf die Senkung hat; die Senkungsgeschwindigkeit nimmt mit der Vergrößerung der Konzentration stark ab, sowohl im Serum wie in äquilibrierter Salzlösung. Folgende Kurven geben ein Bild dieses Verhältnisses.

Die Kurven sind so dargestellt worden, daß auf die Ordinate die Größe der Senkung in Millimetern, auf die Abscisse die Zeit in Viertelstunden kommt; jede Viertelstunde wurde die Senkung mit dem Zirkel gemessen. Kurve I gibt die Senkung im normalen männlichen Blute bei verschiedenen

Körperchenkonzentrationen, Kurve II dasselbe im weiblichen Blute, Kurve III die Senkung bei gewaschenen Körperchen (♂) in physiologisch äquilibrierter Salzlösung[1]) suspendiert und Kurve IV dasselbe beim ♀ Blute.

In Übereinstimmung hiermit ist auch der Befund Hirschfelds[2]), daß Hypoglobulie eine raschere Sedimentierung veranlaßt. Es muß also, wenn verschiedene Suspensionen verglichen werden, immer eine Körperchenvolumbestimmung im Hämatokriten vorangehen und dann die Konzentrationen mit der berechneten Menge Serum gleichgemacht werden.

3. Die Senkungsgeschwindigkeit ist in hohem Maße abhängig von der Neigung der Röhrchen; sie ist weithin am größten, wenn diese 45° schief gestellt werden.

Die Röhrchen müssen also genau parallel gestellt werden. Wir haben sie in ein Gestell unter einem Winkel von 45° gesetzt, weil so die Senkung fast immer innerhalb einer Stunde maximal ist. Über die Ursachen dieses Neigungseinflusses siehe man bei Boycraft[3]).

4. Der allgemein angenommene Parallelismus von Agglutination und Senkung besteht nicht mehr bei etwas gröberer Agglutination, wie sie z. B. im hitzeinaktivierten Serum beobachtet wird. Die Verklumpung kann so intensiv werden, daß die Senkung fast ganz ausbleibt; dann ist aber die Agglutination immer leicht makroskopisch zu konstatieren. Es muß also genau acht auf die Intensität der Agglutination gegeben werden; mikroskopische Kontrolle ist aber nicht notwendig.

Die Abhängigkeit der spezifischen Senkungsgeschwindigkeit (Agglutination) von der ablösbaren Körperchenhülle.

Aus den in der 1. Mitteilung dieser Serie genannten Versuchen[4]) wissen wir, daß die Blutkörperchen im Plasma eine Hülle besitzen, welche vorwiegend aus Phosphatiden und Sterinen besteht und die durch 3—4maliges Waschen mit äquilibrierter Salzlösung entfernt werden kann. Wenn nun die spezifische Agglutination auf den Eigenschaften dieser Hülle beruht, muß diese mit dem Ausspülen der Lipoide verschwunden sein. Das ist nun

[1]) NaCl 0,7%, $NaHCO_3$ 0,2%, KCl 0,02%, $CaCl_2$ 6 aq. 0,02%; $[H^{\cdot}] = 0{,}45 \cdot 10^{-7}$.

[2]) Hirschfeld, Korrespbl. f. Schweiz. Ärzte 1917. Nr. 31.

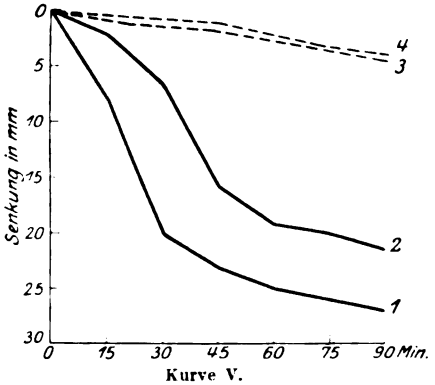
[3]) Boycraft, Nature **105**, 132. 1920.

[4]) Brinkman und van Dam, l. c.

in der Tat der Fall. Man ersieht aus Kurve V, daß die Senkungsgeschwindigkeit sehr viel kleiner wird und daß die markanten Unterschiede von ♂- und ♀-Körperchen nach der Waschung verschwunden sind.

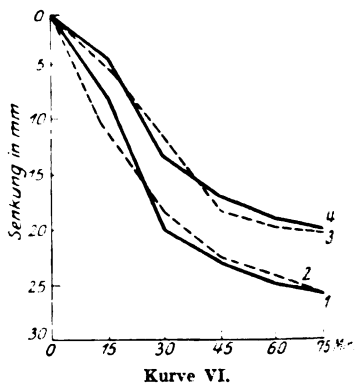
(Es muß speziell darauf geachtet werden, daß die Körperchenkonzentrationen der zu vergleichenden Plasma- und Salzlösungssuspensionen dieselben sind, was sich durch nachträgliches Zentrifugieren der Röhrchen leicht kontrollieren läßt.)

Daß die obengenannte spezifische Agglutination nicht durch das Entfernen des Plasmas an sich aufgehoben wird, geht aus



Kurve V.

(1) ♀ Blut; (2) ♂ Blut; (3) gewaschenes ♀ Blut; (4) gewaschenes ♂ Blut.



Kurve VI.

(1) ♀ Blut; (2) ♀ Blut, 8 × in Rohrzucker gewaschen; (3) ♂ Blut, 8 × in Rohrzucker gewaschen; (4) ♂ Blut.

dem Benehmen der Körperchen in Rohrzuckerlösung hervor. In der 1. Mitteilung wurde darauf hingewiesen, daß in Rohrzuckerlösung die äußere Körperchenhülle nicht so intensiv abgelöst wird; dementsprechend behalten Körperchen, welche in dieser Lösung 4 mal gewaschen sind, ihre Agglutinabilität und, was in erster Linie wichtig, bleibt der spezifische Unterschied von männlichem und weiblichem Blute bestehen (siehe Kurve VI).

Diese letzte Tatsache spricht u. E. stark für die primäre Bedeutung der ablösbaren Körperchenhülle, weil der Einfluß des Suspensionsmediums (♂ oder ♀) hier eliminiert worden ist. In dieselbe Richtung weist auch der Täuschungsversuch.

Weibliche Körperchen behalten im männlichen Plasma ihre spezifisch schnellere Senkung; männliche Körperchen scheinen im weiblichen Plasma im allgemeinen etwas schneller zu agglu-

tinieren als im eigenen Serum. Das wird begreiflich, wenn man die Körperchenhülle als im Gleichgewicht mit der Plasmakonzentration der betreffenden Substanz auffaßt. Daß dies wirklich so ist, ersieht man aus dem Zurückbringen der gewaschenen Körperchen in das eigene Plasma; die Körperchen gewinnen ihre ursprüngliche Senkungsgeschwindigkeit wieder. So kommt man zu der Vermutung, daß die Agglutinationsfähigkeit abhängig ist von einer (abwaschbaren) Körperchenhülle, welche in ihrer Zusammensetzung mit dem Plasma im Gleichgewicht steht.

Diese Experimente mußten jetzt komplettiert werden durch den Versuch, die ausgewaschenen Substanzen wieder an die Körperchenoberfläche zurückzubringen, was dann von einer Rückkehr der spezifischen Agglutination begleitet sein muß. Wir haben das in derselben Weise gemacht, wie wir auch die hämolytische Funktion dieser Hülle zu zeigen suchten[1]).

0,08 ccm Blut wurde in 10 ccm isotonischer Rohrzuckerlösung plasmafrei gewaschen und dann in 2 ccm äquilibrierter Ringerlösung suspendiert und abzentrifugiert; dasselbe geschah noch 3mal. Die 8 ccm Waschflüssigkeit (Salzlösung) wurde im Vakuumexsiccator eingeengt und das Residuum, das also aus Salzlösung + abgespülte Körperchenoberflächen bestand, wurde nach Bang in Papierstreifen extrahiert; erst eine halbe Stunde mit frischdestilliertem Petroläther, dann 24 Stunden mit absolutem Alkohol. Das Äther- und das Alkoholextrakt wurden gesondert abdestilliert und der Rückstand in je 2 ccm äquilibriert Salzlösung aufgenommen.

In dieser Weise bekamen wir also eine etwas konzentrierte Dispersion der Körperchenoberfläche in äquilibrierter Salzlösung; die Wirkung des Plasmas ist also gänzlich eliminiert. Weiter erzielten wir durch spezifische Extraktion eine Trennung der Oberflächenlipoide in eine Cholesterin- und eine Phosphatidfraktion[2]). Den Effekt dieser Oberflächenkolloidlösungen auf die Agglutination (Senkung) gewaschener Körperchen, welche also ihre spezifische Agglutinationsfähigkeit verloren hatten, zeigen folgende Versuchsbeispiele, die ein Bild zahlreicher durchaus gleichartiger Experimente geben.

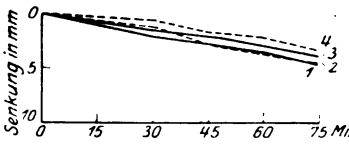
[1]) Brinkman und van Dam, l. c.

[2]) Nach Falta und Richter-Quittner enthält das normale Körperchen keine Cholesterinester.

A. Einfluß des Ätherextraktes der Oberflächenkolloide auf die Agglutination (Senkung) der gewaschenen Körperchen vom ♂- und ♀-Menschenblut.

Die Konzentrationen der Körperchen wurden genau gleichgemacht.

Wie man aus der Kurve VII ersieht, ist der Einfluß dieser Fraktion in dieser Weise gemessen nihil. Wir können aber aus diesen Versuchen durchaus nicht schließen, daß das Cholesterin keine Bedeutung für die untersuchte Erscheinung hat, denn es ist von vornherein sehr unwahrscheinlich, ob das extrahierte Cholesterin sich in reiner Salzlösung mit genügender Dispersität suspendieren läßt. Tatsächlich kann man auch keine Lösung der Cholesterinreste in die Suspensionsflüssigkeit konstatieren. Wir werden aus den in C. genannten Versuchen ersehen, daß doch diese Alkoholfraktion einen großen Einfluß auf die Agglutination hat, wenn nur das Cholesterin in kolloidaler Lösung gehalten wird.



Kurve VII.

(1) ♂ Körperchen in Ringerlösung; (2) ♂ Körperchen in Ringer + Ätherextrakt; (3) ♀ Körperchen in Ringerlösung; (4) ♀ Körperchen in Ringer + Ätherextrakt.

B. Wirkung des sekundären Alkoholextraktes der Oberflächenkolloide auf die gewaschenen Körperchen vom ♂- und ♀-Menschenblut.

Die Wirkung dieser Phosphatidfraktion auf gewaschene Körperchen in äquilibrierter Salzlösung mit physiologischer [H·] ($0{,}45 \cdot 10^{-7}$) ist nach 1stündigem Verweilen im Thermostaten eine fast komplette Hämolyse. Wir finden hier also eine sehr evidente Bestätigung unserer in den 3 ersten Mitteilungen geäußerten Ansicht, daß dem an der Körperchenoberfläche adsorbierten Phosphatid eine wichtige hämolytische Funktion zukommt[1]), welche vom Cholesterin dieser Oberflächenhülle antagonistisch gehemmt wird. Eliminiert man diese Hemmung, so erfolgt bei etwas erhöhter Phosphatidkonzentration innerhalb einer Stunde in physiologischer Salzlösung eine fast komplette Hämolyse.

Was die Agglutination in dieser Lösung angeht, so ist im Anfang (nach 10—15 Minuten) unzweifelhaft eine leichte Agglu-

[1]) Brinkman und van Dam, l. c.

tination und Senkungsbeschleunigung festzustellen, die aber bald nachher durch die Hämolyse aufgehoben wird.

C. Es mußte jetzt untersucht werden, wie sich die gewaschenen Körperchen verhielten, wenn sie in eine Salzlösung suspendiert wurden, in der die Oberflächenkolloide wieder in ihrem physiologischen Verhältnis gelöst waren.

Dazu kann man nicht die unter A. und B. genannten Cholesterin- und Phosphatidlösungen einfach zusammenfügen, weil das Cholesterin sich unter diesen Bedingungen nicht löst. Besser gelingt es, wenn Äther- und Alkohollösung vorher zusammengegossen werden, dann abdestilliert und der Rückstand in isotonische, äquilibrierte Salzlösung aufgenommen wird; dann ist auch das Cholesterin wieder im kolloiden Komplexe aufgenommen. Die Wirkung einer derartig zusammengestellten Oberflächenkolloidlösung auf gewaschene Körperchen in Salzlösung ist nun:

1. keine Hämolyse,
2. eine intensive Agglutination.

Wir ersehen also hier die balancierende Wirkung der Cholesterinfraktion; die Hämolyse der Phosphatidfraktion unterbleibt, aber es erfolgt eine sehr intensive Agglutination. Diese Agglutination ist so stark, daß in den engen Versuchsröhrchen sich eine Art Thrombi bilden, wodurch die Senkung fast ganz stillsteht. Die Verklumpung der Körperchen ist viel stärker als im normalen Serum.

In dieser Weise war es uns also gelungen auch die zweite Aufgabe, die Wiederherstellung der Körperchenoberfläche und die Rückkehr der Agglutinationsfähigkeit in Ringerlösung, zu erfüllen. Es zeigt sich dabei, daß die Phosphatidfraktion an sich stark hämolysierende Eigenschaften hatte, welche von der Cholesterinfraktion balanciert wurden. Das komplexe Cholesterin-Phosphatid war der Träger der Agglutinationsfähigkeit.

Zusammenfassung.

1. Die für die Agglutinationsfähigkeit in erster Linie wichtigen Faktoren sind Größe und Ladung der Körperchen, die Oberflächenspannung zwischen Körperchen und Suspensionsmedium und die Dielektrizitätskonstante der Substanzen, welche die Ladungsoberflächen trennen.

2. Daneben ist die kolloidchemische Zusammensetzung der Körperchenoberfläche, als Träger der elektrischen und capillaraktiven Eigenschaften, von ausschlaggebender Bedeutung.

3. In Salzlösung verlieren die Körperchen ihre spezifische Senkungsgeschwindigkeit, weil hier die Körperchenoberflächenkolloide ausgespült werden. Durch Zufügung der gesamten Oberflächenlipoide zu der Salzlösung bekommen die Körperchen ihre Agglutinationsfähigkeit vollkommen zurück.

4. Durch spezifische Extraktion nach Bang können die Oberflächenlipoide in eine Cholesterin- und eine Phosphatidfraktion zerlegt werden. Die Phosphatide allein bedingen Hämolyse der Körperchen; Phosphatide und Cholesterin zusammen stellen das Agglutinationsvermögen wieder dar.

5. Es wurde eine Mikromethode zur Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit angegeben.

Synthese von 2-Hexosaminsäuren und 2-Hexosaminen.

Von

P. A. Levene.

(Aus dem Laboratorium des Rockefeller Institut for Medical Research, New York.)

(Eingegangen am 28. Juli 1921.)

Inhalt

A. Theoretischer Teil (S. 38).
1. Betrachtungen über die Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 (S. 38).
2 Struktur der Aminoderivate des Zuckers (S. 40).
3. Darstellung und Gleichgewicht der Epimeren der Hexosaminsäuren (S 41)
4. Die Beziehungen zwischen der optischen Drehung der Monocarboxylderivate der Zucker und der der Hexosaminsäuren (S. 42).
5. 2,5-Anhydrotetraoxy-adipinsäuren und ihre Überführung in Hexosaminsäuren durch Waldensche Umkehrung (S 45).
6. Konfiguration der Chitose und Epichitose (S. 47).
7. 3-Heptosaminsäuren (S. 47).

B. Experimenteller Teil (S. 47).
1. Überführung der Hexosaminsäure in ihre Epimeren (S. 47).
a) Epichitosaminsäure (S. 49).
2. Darstellung von Hexosaminsäure aus l-Aminopentosen (S. 50).
a) Chondrosaminsäure und Epichondrosaminsäure (S. 51),
b) Xylohexosaminsäure (S. 52),
c) Ribohexosaminsäure (S. 55).
3. Synthese von Hexosaminen (S. 58).
a) Chitosamin (S. 58),
b) Chondrosamin (S. 60),
c) Epichitosamin (S. 64),
d) Dextroxylohexosamin (S. 65).
4. 2,5-Anhydro-pentoxycapronsäuren (S. 65).
a) Anhydro-mannosäuren und Anhydroglukonsäuren (S. 65),
b) Darstellung der Brucinsalze, der 2,5-Anhydrotalonsäuren und Anhydrogalactonsäuren (S. 66).
5. 2,5-Anhydro-tetraoxy-adipinsäuren (S. 69).
a) 2,5-Anhydro-d-zuckersäure (S. 69),
b) 2,5-Anhydro-mannozuckersäure (S. 71),
c) 2,5-Anhydro-l-zuckersäure (S. 71),
d) 2,5-Anhydro-idozuckersäure (S. 73),
e) 2,5-Anhydro-schleimsäure (S 73),
f) Anhydro-taloschleimsäure (S. 74),
g) 2,5-Anhydro-alloschleimsäure (S. 77).
6. Chitose und Epichitose (S. 77).
7. 3-Heptosaminsäuren (S. 78).
a) Chitosamin-heptonsäure (S. 78),
b) Chondrosamin-heptonsäure (S. 81).

A. Theoretischer Teil.

1. Betrachtungen über die Konfiguration am Kohlenstoffatom 2.

Die vorliegende Arbeit wurde zu dem Zwecke unternommen, um Vergleichsmaterial zur Identifizierung der 2-Amino-hexosen zu erhalten. Bis dahin war nur ein Repräsentant dieser Gruppe, nämlich das Chitosamin (Glucosamin) bekannt, und zwar waren alle Einzelheiten der Konfiguration desselben erforscht mit Ausnahme eines Punktes: der Konfiguration am Kohlenstoffatom 2. Die Schwierigkeiten, die der Lösung dieses Problemes im Wege standen, hatten bis jetzt nicht überwunden werden können. Sie sind hauptsächlich auf die Waldensche Umkehrung zurückzuführen. Seit Fischers Arbeiten war es bekannt, daß Glucosamin bei der Desaminierung in Chitose übergeht und diese durch weitere Oxydation in die entsprechende Säure, die Chitonsäure. Wenn andererseits Chitosamin erst zur Chitosaminsäure oxydiert und dann desaminiert wird, so bildet sich Chitarsäure. Fischer[1]) nahm an, daß diese Säuren epimer seien, obgleich die Konstitution derselben von ihm nicht aufgeklärt worden war. Irvine[2]) und seine Mitarbeiter haben gezeigt, daß aus Chitosamin je nach den Versuchsbedingungen entweder Glucose oder Mannose gewonnen werden kann. Die Schwierigkeiten, welche der Erforschung der Konfigurationen am Kohlenstoffatom 2 beim Chitosamin im Wege standen, mußten, wie vorauszusehen war, wiederkehren, wenn die Frage nach der Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 bei anderen 2-Aminohexosen aufgeworfen wurde.

So zerfällt das Problem der Identifizierung irgendeiner der noch unbekannten 2-Aminohexosen in zwei Teile: Erstens die Aufklärung der Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 3, 4 und 5 und zweitens die der Konfiguration am Kohlenstoffatom 2. Die Lösung des ersten Teils des Problems erschien klar, während große Schwierigkeiten in bezug auf den zweiten Teil des Problems vorauszusehen waren.

Da die Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 bei einem Zucker und der entsprechenden Hexonsäure identisch ist, so begreift die Lösung der Frage nach der Konfiguration der ersten Verbindung die nach der Konfiguration der entsprechenden Säure in sich. Die Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 3, 4 und 5 eines natürlich vorkommenden Hexosamins kann leicht erschlossen werden, sobald die Synthese der ganzen Reihe von 2-Aminohexonsäuren und der entsprechenden Anhydrotetraoxyadipinsäuren verwirklicht worden ist. Die Frage nach der Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 kann noch nicht durch direkten chemischen Vergleich beantwortet werden. Doch konnte sie mit Hilfe eines indirekten Beweises geklärt werden.

Die Reihe der d-2-Aminohexonsäuren ist jetzt synthetisch dargestellt worden. Dabei sind manche Einblicke in gewisse Analogien bei den Reaktionen, die zu ihrer Synthese führen, und beim Vergleich

der Eigenschaften der entsprechenden Hexon- und Hexosaminsäuren gewonnen worden. Diese Analogien wurden nun zu einer vorläufigen Feststellung der Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 bei den Hexosaminsäuren und dann bei den entsprechenden Zuckern verwendet.

Die erste Analogie, die die Aufmerksamkeit auf sich zog, ist das Gleichgewicht der beiden Epimeren, das sich bei der Kondensation der Pentosen einerseits, der Aminopentoside andererseits mit Blausäure bildet. Sie sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

aus	entsteht vorwiegend	aus	entsteht vorwiegend
Arabinose	Mannonsäure	Arabinosid	Chitosaminsäure
Lyxose	Galactonsäure	Lyxosid	Epichondrosaminsäure
Xylose	Gulonsäure	Xylosid	Dextro-xylohexosaminsäure
Ribose	Altronsäure	Ribosid	Laevo-ribohexosaminsäure.

Natürlich ist dieser Parallelismus an sich noch kein Beweis dafür, daß die als Hauptprodukt gebildeten Formen in beiden Reihen eine analoge Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 haben. Es ist jedoch zulässig, diese Annahme zu machen und dann zu untersuchen, in welchem Maße andere Eigenschaften der Hexosaminsäuren mit dieser Annahme in Einklang stehen.

Man wandte sich daher dem Studium der optischen Drehung der Hexon- und Hexosaminsäuren zu. Zuerst wurde gefunden, daß bei einem Paar von Hexonsäuren die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 rechts gerichtet war, wenn sein Hydroxyl dieselbe Stellung inne hatte wie bei der Gluconsäure, und nach links, wenn seine Stellung dieselbe war wie in der Mannosäure. Prüft man die optischen Drehungen der Hexosaminsäuren, so wird beobachtet, daß ebenfalls bei jedem Paar von Epimeren dieser Reihen das Kohlenstoffatom 2 bei dem einen nach rechts, bei dem anderen nach links dreht. Vergleicht man nun die vorherrschend entstehenden Verbindungen von diesem Gesichtspunkt aus, so beobachtet man folgendes:

Tabelle II.

	In dem Hauptprodukt		
aus	dreht C-Atom 2 nach	aus	dreht C-Atom 2 nach
Arabinose	links	Arabinosid	links
Lyxose	links	Lyxosid.	links
Xylose	rechts	Xylosid	rechts
Ribose	links	Ribosid	links.

Die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 bestimmt die Richtung der Drehung der Hexonsäuren. Wenn diese Regel auch auf die Aminohexonsäuren anwendbar wäre, so würde sich ergeben, daß die Schlußfolgerungen, die auf Grund des Gleichgewichtes der beiden Epimeren

gezogen worden waren, mit denjenigen identisch sind, die auf dem Drehungssinn des Kohlenstoffatoms 2 beruhen. Die Tatsache, daß die beiden Annahmen zu demselben Ergebnis führen, erhöht das Gewicht der ursprünglichen Annahme.

E. Fischer und seine Mitarbeiter haben in ihrer Arbeit über die Waldensche Umkehrung beobachtet, daß bei der Einwirkung von salpetriger Säure auf eine Aminosäure einerseits, ihre Ester andererseits die Umkehrung in der Regel nur bei der Säure stattfand, nicht dagegen bei dem Ester. Läßt man diese Regel auch für die Hexosaminsäuren gelten, so sollte man erwarten, daß bei der Desaminierung der Säuren die Drehungsrichtung in die der Aminosäure entgegengesetzte Richtung umschlägt. Diese Erwartung erfüllte sich für jede der 8 Hexosaminsäuren. Dagegen beobachtete man in der Regel dann, wenn nicht die Säure, sondern der Zucker oder das Säurelacton desaminiert wurde, keine Änderung der Drehungsrichtung. Es decken sich also auch die Beobachtungen bei der Waldenschen Umkehrung mit der ursprünglichen Annahme, die sich auf das Gleichgewicht der Epimeren bezieht. Daraus folgt, daß auf Grund jeder der drei Annahmen die Konfiguration der 2-Aminohexonsäuren durch folgende Gegenüberstellung gegeben ist:

Tabelle III.

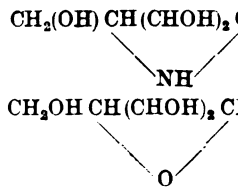
Chitonsäure	2-Amino-mannonsäure,
Epichitonsäure	2-Amino-glukonsäure,
Chondrosaminsäure.	2-Amino-talonsäure,
Epichondrosaminsäure	2-Amino-galaktonsäure,
Dextro-d-xylohexosaminsäure . .	2-Amino-gulonsäure,
Laevo-d-xylohexosaminsäure . .	2-Amino-idonsäure,
Dextro-d-ribohexosaminsäure . .	2-Amino-allonsäure,
Laevo-d-ribohexosaminsäure . .	2-Amino-altronsäure.

Sollte einmal durch einen direkten Beweis gefunden werden, daß die Konfiguration am Kohlenstoffatom 2 in irgendeiner dieser Säuren der in dieser Tabelle geforderten entgegengesetzt sei, so müßte unsere Annahme bezüglich der Konfiguration desselben in jeder anderen Hexosaminsäure entsprechend umgeändert werden. Mit anderen Worten, die Kenntnis der Konfiguration irgendeiner der 2-Aminohexonsäuren ist soweit gefördert, daß es genügt, die Konfiguration eines einzigen Gliedes der ganzen Reihe einwandfrei festzustellen, um daraus die Konfiguration aller anderen ableiten zu können.

2. Struktur der Aminoderivate der Pentosen.

Für diese Derivate sind drei verschiedene Formeln vorgeschlagen worden.

$$CH_2OH(CHOH)_2\,CH\,CH\,OH \qquad \text{(I)}$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\quad NH$$



(II)

(III)

Die erste stammt von Lobry de Bruyn[3, 4]), die zweite von Wohl[5]) und die dritte von Irvine, Thomson und Garret[6]). Jedoch ist keine der drei Formeln durch einen experimentellen Beweis gestützt worden. Dieser wurde erst im Laufe der vorliegenden Arbeit[7]) geliefert. Es wurde nämlich gezeigt, daß der Stickstoff dieser Verbindungen in Form einer primären Aminogruppe vorliegt. Dem Furanring wurde in Analogie mit der Struktur anderer Glucoside vor der Äthylenoxydstruktur der Vorzug gegeben.

Tabelle IV.

Die Beziehung des Gesamtstickstoffs zum NH_2-Stickstoff in den Aminopentosiden.

	N berechnet 9,4%. Gesamtstickstoff	Amino-Stickstoff
Aminoribosid . .	9,73%	9,39%
	9,06%	8,78%
Aminoxylosid . .	9,64%	9,16%

3. Darstellung und Gleichgewicht der epimeren Hexosaminsäuren.

Wenn das natürliche Hexosamin leicht zugänglich ist, so führt die Oxydation desselben mit Brom oder mit Quecksilberoxyd oft zu der entsprechenden Hexosaminsäure[8]). Die Versuchsbedingungen müssen in jedem Falle dem einzelnen Zucker angepaßt werden. Zuweilen versagt jedoch diese Methode[1]). Von den drei bisher in krystallinischer Form erhaltenen Hexosaminen werden zwei leicht oxydiert, das dritte, Epichitosamin, konnte dagegen nicht in die entsprechende Säure übergeführt werden. Hat man eine 2-Aminohexonsäure aus einem natürlichen Zucker erhalten, so läßt sich sein Epimeres leicht durch Erhitzen mit Pyridin in derselben Weise darstellen, wie die Talonsäure aus der Galaktonsäure. Auf diese Weise wurde Epichitosaminsäure gewonnen[9]).

Die Synthese der 2-Aminohexonsäuren aus den Aminopentosiden wurde durch ihre Kondensation mit Blausäure bewerkstelligt. Fischer und Leuchs[10]) haben diese Umsetzung zur Synthese von Chitosaminsäure aus Aminoarabinosid benutzt; sie erzielten dabei eine Ausbeute von 10% des angewandten Pentosids. Es wurde im Laufe der gegenwärtigen Arbeit beobachtet, daß die Reaktionsbedingungen jedem einzelnen Pentosid angepaßt werden müssen. Die Temperatur und Reaktionsdauer insbesondere bestimmen den Erfolg der Operationen. Im günstig-

sten Falle wurde eine Ausbeute von etwa 55% des angewandten Pentosids erhalten.

Die Trennung der durch die Synthese gebildeten 2 Epimeren wird durch fraktionierte Krystallisation ermöglicht. Zur endgültigen Reinigung wurden jedoch die Säuren, wenn irgend möglich, in krystallisierende Derivate übergeführt. Zu diesem Zwecke wurde das Verhalten der Säuren gegen Benzaldehyd untersucht. Sie reagieren verschieden mit dieser Substanz. Oft bildet das eine Epimere ein Benzylidenderivat, während das andere unter den gleichen Bedingungen nicht mit Benzaldehyd kuppelt und statt dessen ein nicht substituiertes Lacton ergibt. So entsteht aus Chitosaminsäure ein Benzyliden-chitosaminsäure-äthylester, aus seinem Epimeren ein Lacton. Dextro-d-xylohexosaminsäure gibt einen Dibenzylidenxylohexosaminsäureäthylester, sein Epimeres ein Monobenzylidenlacton. Dextro-d-ribohexosaminsäure liefert das Dibenzylidenlacton, sein Epimeres das Lacton.

Die Lyxo-d-hexosaminsäuren bilden keine krystallinischen Lactone, Ester oder Benzylidenderivate, aber die Lävo-d-lyxohexosaminsäure geht bei der Reduktion in ein krystallinisches Chlorhydrat des Zuckers über, während das Epimere kein solches liefert.

So war es möglich, genügend Material zur Prüfung der Reinheit eines jeden einzelnen Epimeren der 4 Paare von d-Hexosaminsäuren zu erlangen. Die Gleichgewichte der 2 Epimeren, die sich einerseits von jeder Pentose, andererseits von dem entsprechenden Aminopentosid ableiten, sind in der Tabelle I verglichen.

4. Die Beziehungen der optischen Drehung der epimeren monocarboxylierten Zucker und der Hexosaminsäuren.

Gemäß der vant' Hoffschen Theorie ist das Drehungsvermögen bei Substanzen, die mehrere asymmetrische Kohlenstoffatome besitzen, gleich der algebraischen Summe der Drehungen jeder einzelnen Gruppe. Hudson[11]) hat diese vant' Hoffsche Theorie erfolgreich auf das Studium der Konfiguration des endständigen Kohlenstoffatoms in Glucosiden angewendet. Bei ihrer Übertragung auf die monocarboxylierten Säuren der Zucker haben wir folgenden Weg eingeschlagen[12,13,14]): Es seien zwei epimere Säuren gegeben, deren Konfiguration am Kohlen-

1	COOH	COOH
2	OHCH	HCOH
3	OHCH	OHCH
4	HCOH	HCOH
5	HCOH	HCOH
6	CH_2OH	CH_2OH

stoffatom 2 verschieden ist. Der eine Teil des Moleküls, der die Kohlenstoffatome 1 und 2 enthält, sei mit dem Buchstaben B bezeichnet, der andere Teil mit dem Kohlenstoffatom 3, 4, 5 und 6 mit dem Buchstaben A.

Die algebraische Summe ist bei dem einen Epimeren $A + B$, bei dem anderen $A - B$. Setzt man nun $A + B = m$ und $A - B = n$, so ist $A = \frac{m+n}{2}$; $B = m - A = \frac{2m - m - n}{2} = \frac{m-n}{2}$ und $-B = n - A = \frac{2n - m - n}{2} = -\frac{m-n}{2}$.

Auf diese Weise wurde die optische Drehung am Kohlenstoffatom 2 bei den Derivaten der verschiedenen Paare von Zuckersäuren berechnet. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle V.
Anorganische Salze.

	C.	$[\alpha]_D^{20}$	Drehung des C-Atoms 2 $[\alpha]_D^{20}$	$[M]_D^{20}$
d-Na-gluconat . . .	20°	+11,78	+10,29	+22,42 (10^2)
d-Na-mannonat . .	10°	−8,82	−10,29	−22,42 (10^2)
d-Na-gulonat . . .	10°	+12,68	+7,60	+16,55 (10^2)
d-Na-idonat . . .	10°	−2,52	−7,60	−16,55 (10^2)
d-Na-galactonat . .	10°	+0,40	—	—
d-Na-talonat . . .	10°	nicht bestimmt	—	—
d-Na-allonat . . .	10°	+4,30	+4,20	+9,15 (10^2)
d-Na-altronat . . .	10°	+4,05	+4,20	−9,15 (10^2)
d-Ca-chitarat . . .	10°	+70,29	−18,32	+39,72 (10^2)
d-Ca-chitonat . . .	10°	+33,65	−18,32	−39,72 (10^2)

Tabelle VI.
Brucinsalze.

	F.	C.	$[\alpha]_D^{20}$	Drehung des C-Atoms 2 $[\alpha]_D^{20}$	$[M]_D^{20}$
d-Gluconat	155°	2,5	−15,95	+4,85	+28,50 (10^2)
d-Mannonat	212°	2,5	−25,70	−4,85	−28,50 (10^2)
d-Gulonat	162—4°	2,5	−19,59	+3,1	+18,20 (10^2)
d-Idonat	188°	2,5	−25,79	−3,1	−18,20 (10^2)
d-Galactonat. . . .	170°	2,5	−21,01	+2,57	+15,10 (10^2)
d-Talonat	132°	2,5	−26,15	−2,57	−15,10 (10^2)
d-Allonat	160°	2,5	−21,28	+1,28	+7,51 (10^2)
d-Altronat	158°	2,5	−23,82	−1,28	−7,51 (10^2)
d-Chitarat	195°	5,0	−2,96	+2,72	+14,15 (10^2)
d-Chitonat.	222°	5,0	−8,47	−2,72	−14,15 (10^2)

Aus diesen Angaben ist ersichtlich, daß eine konstante Beziehung zwischen der Konfiguration und dem optischen Drehungssinn des Kohlenstoffatoms 2 besteht. Bei denjenigen Säuren, in denen das Kohlenstoffatom dieselbe Anordnung der Substituenten wie in der

Gluconsäure besitzt, dreht das Kohlenstoffatom 2 nach rechts, bei denen, die analog der Mannonsäure gebaut sind, nach links.

Später haben Hudson[16, 17, 18]) und seine Mitarbeiter und ebenso Weerman[19]) die optische Drehung des Kohlenstoffatoms 2 in einer Reihe von Zuckersäuren errechnet und haben gefunden, daß der Drehungssinn des Kohlenstoffatoms 2 den der Säure bestimmt. Die Regel von Hudson gilt für die meisten Zuckersäuren, doch ist sie nicht so allgemein anwendbar wie die erste Regel von mir. Für die 2,5-Anhydrosäuren gilt die Hudsonsche Regel nicht, während die ursprüngliche Regel ihre Gültigkeit bewahrt. Gleichgültig ob die Hudsonsche Regel oder die von mir gegebene angewendet wird, man kommt zu demselben Schluß, wenn man die Beziehung zwischen der Konfiguration des Kohlenstoffatoms 2 und der optischen Drehung der Säure betrachtet. In den rechtsdrehenden Säuren ist die Konfiguration dieses Kohlenstoffatoms dieselbe wie in der Gluconsäure und vice versa in den linksdrehenden dieselbe wie in der Mannonsäure.

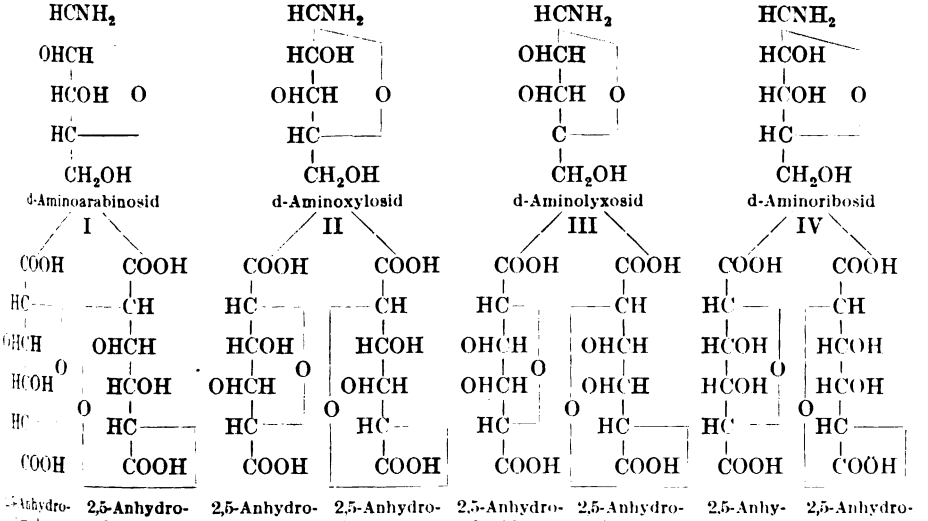
Konfiguration und Drehung der epimeren Hexosaminsäuren. Alle 8 möglichen d-Hexosaminsäuren sind dargestellt worden. Wendet man die oben beschriebene Methode zur Berechnung des Wertes und der Richtung der Drehung des Kohlenstoffatoms 2 an, so findet man, daß auch bei den 2-Aminohexonsäuren die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 bei dem einen Epimeren rechtssinnig, bei dem anderen entgegengesetzt gerichtet ist. Vergleicht man den numerischen Wert der Drehung dieses Kohlenstoffatoms in Hexosaminsäuren und den Drehungswert desselben Kohlenstoffatoms in den Phenylhydraziden der entsprechenden Hexonsäuren, so überrascht die Gleichheit dieser Werte in den beiden Reihen. Die Ausnahme in dem Paar: Galaktonsäure—Talonsäure ist unzweifelhaft dem Umstande zuzuschreiben, daß die Talonsäure noch nicht in reinem Zustand hat dargestellt werden können. Die Werte der spezifischen Drehung sind identisch, nicht dagegen die der Molekulardrehung. Die folgende Tabelle enthält die Drehungswerte des Kohlenstoffatoms 2 in den Hexosaminsäuren und den entsprechenden Phenylhydraziden der Hexonsäuren.

	$[\alpha]_D$ des C-Atoms 2	$[M]_D^{20}$	Phenylhydrazid der	$[\alpha]_D$ des C-Atoms 2	$[M]_D^{20}$
Epichitosamins. . . .	+ 12,5	+ 24,37 (10^2)	Glucons.	+ 14,25	+ 42,18 (10^2)
Chitosamins.	— 12,5	— 24,37 (10^2)	Mannons.	— 14,25	— 42,18 (10^2)
Dextro-xylohexosamins.	+ 12,5	+ 24,37 (10^2)	Gulons.	+ 14,25	+ 42,18 (10^2)
Laevo-xylohexosamins.	— 12,5	— 24,37 (10^2)	Idons.	— 14,25	— 42,18 (10^2)
Epichondrosamins. . .	+ 12,5	+ 24,37 (10^2)	Galactons.	+ 8,25	+ 24,42 (10^2)
Chondrosamins. . . .	— 12,5	— 24,37 (10^2)	Talons.	— 8,25	— 24,42 (10^2)
Dextro-ribohexosamins.	+ 19,12	+ 37,28 (10^2)	Allons.	+ 20,8	+ 61,56 (10^2)
Laevo-ribohexosamins.	— 19,12	— 37,28 (10^2)	Altrons.	— 20,8	— 61,56 (10^2)

5. 2,5-Anhydro-tetraoxy-adipinsäuren*) und die Waldensche Umkehrung zu den Hexosaminreihen.

Läßt man salpetrige Säure auf ein gegebenes Hexosamin einwirken, so kann man zu zwei epimeren Säuren gelangen. Es war in dem einleitenden Abschnitt erwähnt worden, daß Fischer aus Chitosamin entweder Chitonsäure oder Chitarsäure je nach der Folge der beiden Reaktionen, welche zur vollständigen Überführung erforderlich sind, erhalten hat. Wenn Chitosamin zuerst zu Chitose desaminiert und dann zur Säure oxydiert wird, entstand als Endprodukt Chitonsäure. Oxydiert man dagegen Chitosamin zuerst zur Chitosaminsäure und desaminiert dann, so bildet sich Chitarsäure. Solange die Konfiguration dieser beiden Säuren unbekannt war, blieb es unmöglich, zu bestimmen, bei welcher der beiden Reaktionsfolgen die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 in bezug auf das ursprüngliche Hexosamin umgeschlagen war. Chitonsäure und Chitarsäure sind 2,5-Anhydro-hexonsäuren. Es erwies sich also als notwendig, die Konfiguration dieser Säuren festzustellen, um ermitteln zu können, in welcher der beiden aus einer Hexosaminsäure gebildeten Säuren die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 ihre Richtung gewechselt hat.

Die Konfiguration der Kohlenstoffatome 2, 3, 4 und 5 bleibt in den Hexosen, den entsprechenden Hexonsäuren und den Tetraoxy-adipin-



*) Die Kohlenstoffatome sind ebenso numeriert wie bei den entsprechenden Hexosen.

säuren stets dieselbe. Das gleiche gilt auch für die Anhydro-hexonsäuren und die Anhydro-tetraoxy-adipinsäuren. Die Konfiguration der Hexosereihen wurde von Fischer auf Grund ihrer gegenseitigen Beziehungen zu den Tetraoxy-adipinsäuren dargelegt. In ähnlicher Weise wurde die Konfiguration der 2,5-Dehydro-hexonsäuren durch ihre gegenseitigen Beziehungen zu den 2,5-Anhydro-adipinsäuren festgestellt. Der Gedankengang, der zur Lösung dieses Problems führte, ist aus der vorstehenden Tafel (S. 45) zu ersehen.

Man sieht, daß V und VII die beiden Antipoden der Anhydrozuckersäure sind, während VI das Anhydrid der Mannozuckersäure, VIII das der Idozuckersäure darstellt. Die aus dem Lyxosid abgeleiteten beiden Aminosäuren stellen einerseits die Dehydroschleimsäure (IX), andererseits die Anhydro-taloschleimsäure (XII) dar, die identisch ist mit der einen der aus dem Ribosid entstehenden Anhydrosäure. Das zweite aus dem Ribosid gebildete Epimere hat die Konfiguration der Anhydro-alloschleimsäure. Die Konfiguration der Anhydro-tetraoxy-adipinsäuren ist also festgestellt und gleichzeitig damit der Beweis für die Konfiguration der entsprechenden 2,5-Anhydro-hexonsäure und der 2,5-Anhydro-hexosen gewonnen. Da es zulässig ist, sich statt auf die Anhydro-oxy-adipinsäuren auf die Anhydro-hexonsäuren zu beziehen, erscheint es möglich, die Drehung des Kohlenstoffatoms 2 in diesen und in den Hexosaminsäuren, von denen sie abgeleitet werden, zu vergleichen.

	Drehung des C-Atoms 2				Drehung des C-Atoms 2
Anhydro-d-glukonsäure*)	d	erhalten aus		Chitosaminsäure	l
Anhydro-d-mannonsäure (Chitonsäure)	l	„	„	Chitosamin	l
Anhydro-d-mannonsäure (Chitonsäure)	l	„	„	Epichitosaminsäure	d
Anhydro-d-mannonsäure (Chitonsäure)	l	„	„	Epichitosaminlacton	d
Anhydro-d-gulonsäure	d	„	„	Laevoxylohexosaminsäure	l
Anhydro-d-gulonsäure	d	„	„	Dextroxylohexosaminlacton	d
Anhydro-d-idonsäure	l	„	„	Dextroxylohexosaminsäure	d
Anhydro-d-galactonsäure	d	„	„	Chondrosaminsäure	l
Anhydro-d-talonsäure	l	„	„	Chondrosamin	l
Anhydro-d-talonsäure	l	„	„	Epichondrosaminsäure	d
Anhydro-d-altronsäure	l	„	„	Dextroribosexosaminsäure	d
Anhydro-d-allonsäure	d	„	„	Laevo-d-ribohexosaminsäure	l

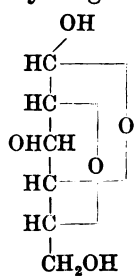
Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß sich die Drehungsrichtung des Kohlenstoffatoms 2 umkehrt, wenn die 2-Amino-hexonsäure in die

*) Epichitosamin, das dieselbe Anhydrosäure bilden sollte, ist die einzige Substanz dieser Gruppe, die sich nicht in die Anhydrosäure überführen läßt. Bei seiner Oxydation entsteht Zuckersäure. In Anbetracht der Konfiguration mußte dieses Ergebnis erwartet werden.

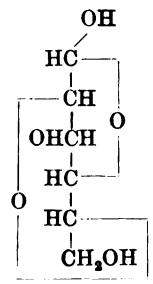
2,5-Anhydro-hexonsäure übergeführt wird. Bei den 3 Beispielen, bei denen der Aminozucker vor der Oxydation desaminiert worden war, blieb die Drehungsrichtung des Kohlenstoffatoms 2 unverändert. Als in 2 Fällen die Lactone desaminiert wurden, schlug in einem Fall die Drehungsrichtung des Kohlenstoffatoms 2 um, im anderen nicht. Es ist also möglich, von einem Hexosamin zu den beiden daraus ableitbaren Epimeren 2,5-Anhydro-hexonsäuren zu gelangen. Folglich hat in einem Falle eine Waldensche Umkehrung stattgefunden, wahrscheinlich dann, wenn die Hexosaminsäure zuerst desaminiert worden ist.

6. Konfiguration der Chitose und Epichitose[20])[21]).

Es ist seit langem bekannt, daß bei der Behandlung mit salpetriger Säure eine stickstoffreie 2,5-Anhydrohexose gebildet wird. Die Konfiguration des entstandenen Zuckers blieb unbekannt. Auf Grund des in der vorliegenden Arbeit gesammelten Materials, insbesondere in Anbetracht der Tatsache, daß Chitose zur 2,5-Anhydro-mannonsäure oxydiert wird, besitzt die Chitose die Konfiguration einer 2,5-Anhydromannose. Gleicherweise kommt der im Laufe dieser Arbeit aus Epichitosamin dargestellten neuen Anhydro-hexose die Konstitution einer 2,5-Dehydro-glucose zu.



2,5-Dehydroglucose-Epichitose



2,5-Dehydromannose-Chitose

7. 3-Aminoheptonsäuren.

Schließlich sei noch erwähnt, daß auch 2 Paare von Epimeren 3-Aminoheptonsäuren, nämlich die 3-Aminochitoheptonsäuren und die 3-Aminochondroheptonsäuren auf synthetischem Wege dargestellt worden sind, um die Konfiguration ihrer desaminierten Derivate zu ermitteln. Es ist zu erwarten, daß sie bei der Fortsetzung dieser Arbeit über die Konfigurationsaufklärung der entsprechenden 2-Aminohexonsäuren gute Dienste leisten werden.

B. Experimenteller Teil.

1. Umwandlung der Hexosaminsäuren in ihre Epimeren.

Diese Umwandlung kann durch 4stündiges Erhitzen mit einer wässerigen Lösung von Pyridin bei 100—105°[15], [12]) bewerkstelligt

werden. In einem Vorversuch wurde die Bildung des Epimeren durch die Tatsache nachgewiesen, daß sowohl aus der Chitosaminsäure als auch aus der Chondrosaminsäure beim Erhitzen mit Pyridin Fraktionen erhalten wurden, die eine deutlich verschiedene optische Drehung zeigten; z. B. ergab

Chitosaminsäure	($[\alpha]_D = -15{,}02$) Fraktionen von	$[\alpha]_D = +2{,}11°$
		$+6{,}75°$
		$+7{,}72°$
		$+8{,}57°$
Chondrosaminsäure	($[\alpha]_D = -16{,}15$) Fraktion von	$[\alpha]_D = -4{,}83°$

Später wurde durch diesen Vorgang aus reiner Chitosaminsäure Epichitosaminsäure erhalten und zwar nach folgender Vorschrift:

100 g Chitosaminsäure werden in 1000 ccm Wasser gelöst, dem 100 g Pyridin zugesetzt worden sind, und 4 Stunden lang im Autoklaven auf 105° erhitzt. Die Lösung wird dann unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei der größere Teil der Chitosaminsäure im Destillierkolben auskrystallisiert. Der Rückstand wird mit einer möglichst kleinen Menge von kochendem Wasser wieder in Lösung gebracht und die noch heiße Lösung mit dem gleichen Volumen 95 proz. Alkohols versetzt. Die Flüssigkeit erstarrt dann zu einem Krystallbrei von Chitosaminsäure. Um die Krystallisation zu vervollständigen, läßt man noch 8—12 Stunden stehen. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen eingedampft. (Die Temperatur des Wasserbades soll 50° nicht überschreiten.) Dazu fügt man solange 95 proz. Alkohol, bis die Lösung schwache Opalescenz zeigt, welche durch Zugabe von wenig heißem Wasser gerade wieder aufgehoben wird. Beim Stehen oder besser beim Anreiben beginnt bald die Ausscheidung einer krystallinischen Substanz. Sie erreicht ihr Maximum in ungefähr 24 Stunden. Die Substanz wird in einer sehr kleinen Menge heißen Wassers gelöst, mit Tierkohle gekocht und das Filtrat in der vorher beschriebenen Weise wiederum mit 95 proz. Alkohol behandelt. Die so erhaltene krystallinische Verbindung ist zuweilen fast farblos, zuweilen schwach gelb gefärbt. Sie besteht aus einem Gemisch von Chitosaminsäure und Epichitosaminsäure in verschiedenen Mengenverhältnissen, in einem Falle wurde reine Chitosaminsäure zurückgewonnen. Die optische Drehung dieser Substanz schwankte zwischen $[\alpha]_D^{20} = +3°$ und $+8{,}0°$; in einem Falle hatte $[\alpha]_D^{20}$ den Wert $+10°$.

Zur weiteren Reinigung wurde die Epichitosaminsäure in ihr Lacton übergeführt. Man verfuhr in der folgenden Weise: Zu 3 g der Säure fügte man 2 ccm 99,5 proz. Alkohols und 1 ccm Benzaldehyd hinzu und leitete durch diese Lösung einen Strom trockenen Salzsäuregases. Anfangs geht die Säure in Lösung und bald darauf beginnt die Aus-

scheidung eines krystallinischen Niederschlages. Die Behandlung mit Salzsäuregas wird noch etwa 7 Minuten fortgesetzt. Nach 8—12stündigem Stehen fügt man 3 ccm über Natrium getrockneten Äther hinzu und läßt die Mischung weitere 12—24 Stunden stehen, um die höchste Ausbeute an Lactonchlorhydrat zu erhalten. Die Addition von Benzaldehyd hat den Zweck, die Chitosaminsäure in das Benzalderivat ihres Äthylesters überzuführen. Unter diesen Bedingungen bleibt es in Lösung und ermöglicht so die Krystallisation des Lactons der Epichitosaminsäure. In Abwesenheit von Benzaldehyd bildet sich ein amorpher Niederschlag, welcher wahrscheinlich aus einer Mischung der beiden Lactone besteht.

Das Lacton wird aus Methylalkohol umkrystallisiert. Es ist ratsam, die rohe Substanz in einem Überschuß heißen Methylalkohols zu lösen, die Lösung mit Tierkohle zu entfärben und dann auf ein kleines Volumen einzuengen. Das Lacton krystallisiert in farblosen prismatischen Nadeln. Die Substanz schmilzt bei 203° unter Gasentwicklung und hat folgende Zusammensetzung:

0,1040 g Substanz gab 0,1286 g CO_2 und 0,1040 g H_2O,
0,100 g Substanz erfordern zur Neutralisation 4,65 ccm 0,1 n-Säure,
0,100 g Substanz erfordern 4,5 ccm 0,1 n-$AgNO_3$-Lösung.

Berechnet für $C_6H_{12}NO_{25}Cl$	Gefunden
C = 33,71%	33,72%
H = 5,67%	5,47%
N = 6,55%	6,51%
Cl = 16,25%	15,97%

Die spezifische Drehung der Substanz betrug:

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}9 \cdot 100}{1 \cdot 2} = 45°.$$

a) Epichitosaminsäure.

2 g des Lactons wurden in 20 ccm destillierten Wassers gelöst. Die mit einer Lösung von Bariumhydroxyd alkalisch gemachte Flüssigkeit ließ man über Nacht stehen, entfernte das Barium quantitativ mittels Schwefelsäure, die Salzsäure mit Silbercarbonat und den Überschuß des letzteren durch Schwefelwasserstoff. Die Mutterlauge des Silbersulfids wurde auf ein kleines Volumen eingeengt, das auf Zusatz einer geringen Menge Alkohol sofort die Epichondrosaminsäure in prismatischen Nadeln ausschied. Die Substanz zeigte einen Schmelzpunkt von 198° (unkorrigiert) unter Zersetzung.

0,0992 g Substanz gaben 0,1336 g CO_2 und 0,0606 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_6$	Gefunden
C = 36,92%	36,8%
H = 6,66%	6,72%

Die optische Drehung der Substanz betrug im Anfang

$$[\alpha]_D^{20} + \frac{0{,}2 \cdot 100}{1 \cdot 2} = + 10°,$$

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = \frac{0{,}78 \cdot 100}{1 \cdot 2} = + 39°$.

2. Darstellung von Hexosaminsäuren aus l-Amino-pentosiden[15]).

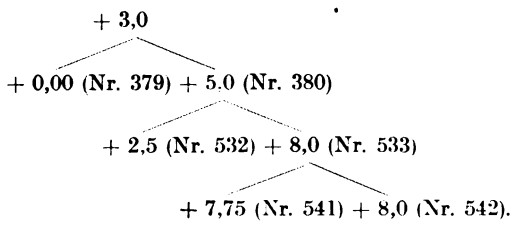
Die günstigsten Konzentrationen der Pentoside und der Blausäure waren für alle Fälle die gleichen. Das Pentosid wurde über Natrium unter vermindertem Druck zunächst bei Zimmertemperatur, dann bei 50° getrocknet. Davon wurden 30 g mit 50 ccm Wasser aufgenommen und mit 40 ccm 80 proz. Blausäure und 5 ccm wässerigen Ammoniaks versetzt. Man erwärmt dann auf konstante Temperatur, bis die Reaktion beendet ist. Die anfangs fast farblose und dünnflüssige Lösung wird allmählich dunkel und viscös. Nach einiger Übung kann man das Ende der Reaktion an dieser Erscheinung erkennen. Temperatur und Dauer des Versuches ändern sich mit der Konfiguration der Pentoside. Das Xylosid wurde 15 Minuten lang auf 30° erwärmt, das Lyxosid 8—10 Minuten auf 35°. Das Reaktionsgemisch wird in allen Fällen in der gleichen Weise aufgearbeitet. Man kühlt das Reaktionsgemisch durch Eintauchen in Kältemischung auf 0° ab und gießt es dann in 300 ccm konzentrierte Salzsäure von derselben Temperatur. Dann sättigt man mit Salzsäuregas und läßt die Lösung mindestens eine Stunde stehen. Man kann auch mit der Aufarbeitung bis zum nächsten Tage warten. Die Lösung wird unter vermindertem Druck bei einer 75° nicht überschreitenden Temperatur eingedampft, wobei beträchtliche Mengen von Ammoniumchlorid auskrystallisieren. Sobald die Lösung sehr viscös geworden ist, wird die Destillation unterbrochen und der Kolbeninhalt in 2 Liter 95 proz. Alkohol gegossen. In der Regel scheidet sich dabei eine geringe Menge teeriger Substanz ab, welche durch Filtration durch Baumwolle entfernt wird*). Das alkoholische Filtrat konzentriert man unter vermindertem Druck, löst den Rückstand in ungefähr 1 Liter Wasser und fügt 200 g feuchten Bariumhydroxyds hinzu. Die Mischung wird wiederholt bis nahe zur Trockene eingedampft. Wenn alles Ammoniak entfernt ist, unterbricht man die Destillation und entfernt das Barium quantitativ mittels Schwefelsäure, die Salzsäure mittels Blei- und Silbercarbonat. Die so erhaltene Lösung wird auf dem Wasserbad allmählich in kleinen Portionen mit heißem Methylalkohol versetzt bis ein krystallinischer Niederschlag sich auszuscheiden beginnt.

*) Die Behandlung mit Alkohol kann ausgelassen werden.

a) Chondrosaminsäure und Epichondrosaminsäure[15, 23]).

Die spezifische Drehung des rohen Materials betrug $[\alpha]_D^{20} = +3{,}0°$. Da die spezifische Drehung von Chondrosaminsäure $[\alpha]_D^{20} = -17{,}0°$ beträgt, ist das Rohmaterial eine Mischung der beiden Epimeren.

Trennung der Epimeren. 250 g der Säuremischung von $[\alpha]_D^{20} = +3°$ werden in 750 ccm heißen Wassers gelöst. Man läßt die Lösung bei Zimmertemperatur über Nacht stehen, wobei der weitaus größte Teil des Materials auskrystallisiert. Die Drehung dieser Substanz betrug $[\alpha]_D^{20} = 0{,}0°$. Die Mutterlauge wurde unter vermindertem Druck bis zur Trockenheit eingedampft und der Rückstand wiederum aus einer möglichst geringen Menge Wasser umkrystallisiert. Der über Nacht ausgeschiedene Niederschlag zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +2{,}5°$. Die Mutterlauge davon wurde wiederum zur Trockene gebracht, mit einer sehr kleinen Menge Wasser aufgenommen und mit heißem Methylalkohol bis zur schwachen Opalescenz versetzt. Der alsbald gebildete krystallinische Bodensatz zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +8°$. Dieses Produkt wurde wiederum in sehr wenig Wasser gelöst und blieb über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Der so gebildete krystallinische Niederschlag wies eine Drehung auf von $[\alpha]_D^{20} = 7{,}75°$. Die Mutterlauge wurde wiederum unter vermindertem Druck eingetrocknet, der Rückstand mit sehr wenig Wasser aufgenommen und mit heißem Methylalkohol bis zur beginnenden Opalescenz versetzt, worauf die Lösung bald zu einem Krystallbrei erstarrte. Diese Substanz zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +8°$, was zeigt, daß durch die zum Schluß vorgenommene Behandlung eine weitere Trennung nicht erzielt worden ist. Der Verlauf der Fraktionierung wird durch das folgende Diagramm dargestellt.



Die Substanz, die die Drehung $[\alpha]_D^{20} = 0{,}00°$ zeigte, wurde solange aus Wasser umkrystallisiert, bis eine Fraktion von der Drehung $[\alpha]_D^{20} = -17{,}5°$ erhalten wurde. Das rechtsdrehende Epimere hatte die folgende Zusammensetzung:

0,1004 g Substanz gaben 0,1358 g CO_2 und 0,0624 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_6$	Gefunden
C = 36,92%	36,89%
H = 6,66%	6,96%

Die Substanz schmilzt bei 206° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}16 \cdot 100}{1 \cdot 2} + = 8°$. Die synthetisch gewonnene Chondrosaminsäure ist mit der durch Oxydation des natürlich vorkommenden Chondrosamins erhaltenen identisch.

b) Xylohexosaminsäuren[15, 34]).

Die spezifische Drehung des Säuregemisches beträgt

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}07 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +3{,}5°.$$

Trennung der Epimeren. 280 g des Säuregemisches löst man in sehr wenig Wasser und fügt solange Methylalkohol hinzu, bis sich ein krystallinischer Niederschlag zu bilden beginnt. Dieser wird abfiltriert und zeigt die Drehung $[\alpha]_D^{20} = +5{,}0°$. Die Mutterlauge wird unter vermindertem Druck zur Trockene gebracht, der Rückstand mit einer sehr geringen Menge Wasser aufgenommen und mit Alkohol versetzt, wobei ein Niederschlag ausfällt, der durch Filtration entfernt wurde und die Drehung $[\alpha]_D^{20} = 2{,}00°$ hatte.

180 g dieser Substanz wurden in 300 ccm heißen Wassers gelöst. Der beim Abkühlen ausgeschiedene Niederschlag zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -1{,}0°$. 110 g dieser Substanz wurden nochmals aus 400 ccm heißen Wassers umgelöst, wobei sich ein krystallinischer Niederschlag bildete, der die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -1{,}0°$ besaß. Durch weitere Reinigung änderte sich die Drehung der Substanz nicht mehr. Sie schmolz bei 200° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung und hatte folgende Zusammensetzung:

0,100 g Substanz ergaben 0,1354 g CO_2 und 0,0590 g H_2O,
0,100 g Substanz erforderte zur Neutralisation 5,25 ccm 0,1 n-Säure.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_5$	Gefunden
C = 36,92%	36,92%
H = 6,66%	6,60%
N = 7,18%	7,35%.

Die spezifische Drehung betrug

im Anfang $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}22 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -11{,}0°$,

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}63 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -31{,}5°$.

Der Verlauf der Fraktionierung der Epimeren wird durch folgende Tabelle dargestellt:

Säuregemisch $[\alpha]_D^{20} = +3.5$

$[\alpha]_D$ +5 (Nr. 614)	$[\alpha]_D$ +2,0 (Nr. 615)
$[\alpha]_D$ +14,0 (Nr. 627)	$[\alpha]_D$ −1,0 (Nr. 630)
$[\alpha]_D$ +14,0 (Nr. 628)	$[\alpha]_D$ −1,0 −11,0 (Nr. 641).

Die Substanz, die die Drehung $[\alpha]_D^{20} = +5°$ besaß, wurde in sehr wenig heißem Wasser gelöst und nach 30 Minuten noch warm filtriert. Der so gebildete Niederschlag zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +14{,}0°$. Die Ausbeute betrug 87 g. Diese wurden aus 400 ccm kochendem Wasser umkrystallisiert. Der durch Eindampfen der Mutterlauge unter vermindertem Druck erhaltene Rückstand wurde mit sehr wenig Wasser aufgenommen und mit heißem Methylalkohol bis zur Opalescenz versetzt, worauf die Krystallisation sofort begann. Die spezifische Drehung beider Substanzen war identisch: $[\alpha]_D^{20} = +14{,}0°$.

d-Dextro-hexosaminsäurelacton-chlorhydrat. In eine Suspension von 10 g der Aminosäure in 100 ccm 99,5 proz. Äthylalkohols leitet man Salzsäuregas ohne Kühlung bis zur Sättigung des Alkohols ein, wobei die Substanz anfangs in Lösung geht. Unmittelbar darauf beginnt die Ausscheidung einer geringen Menge eines weißen Niederschlages, der sich aber wieder auflöst, wenn mehr Salzsäure eingeleitet wird. Ist die Lösung schließlich gesättigt, beginnt die Krystallisation des Lactons, die nach einigen Stunden beim Stehen in der Kälte vollständig wird. Die Krystalle werden abfiltriert und mit absolutem Alkohol gewaschen. Die Ausbeute ist praktisch quantitativ. Die Substanz krystallisiert in dichten Aggregaten prismatischer Nadeln, die zu Kugeln zusammengeballt sind. Aus einem Überschuß von Äthylalkohol umkrystallisiert, schmelzen sie bei 205° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung. Die Substanz hat folgende Zusammensetzung:

0,1000 g Substanz gaben 0,1234 g CO_2 und 0,0504 g H_2O.
0,2000 g Substanz erfordern zur Neutralisation 9,31 ccm 0,1 n-Säure.
0,1000 g Substanz erfordern 4,5 ccm 0,1 n-$AgNO_3$-Lösung.

Berechnet für $C_6H_{12}NO_5Cl$	Gefunden
C = 33,71%	33,65%
H = 5,67%	5,64%
N = 6,55%	6,52%
Cl = 16,25%	15,98%

Umwandlung des Lactonchlorhydrats in die entsprechende Säure. Man läßt eine Lösung von 5 g des Lactons in 50 ccm Wasser mit einem Überschuß von Bariumhydroxyd über Nacht stehen und entfernt darauf das Barium und die Salzsäure quantitativ. Das eingeengte Filtrat scheidet auf Zusatz von heißem Methylalkohol die Säure in krystallisierter Form aus, die bei 224° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung schmilzt. Die Substanz hat die folgende Zusammensetzung:

0,1070 g Substanz gaben 0,1372 g CO_2 und 0,0620 g H_2O.
0,010 g Substanz gaben 1,27 ccm Stickstoff, bei 26° und 759 mm (bestimmt in der Mikroapparatur von van Slyke).

Berichte für $C_6H_{13}NO_5$	Gefunden
C = 36,92%	37,04%
H = 6,66%	6,86%
N = 7,18%	6,99

Die Substanz schmilzt bei 206° (unkorrigiert) unter
Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}16 \cdot 1}{1 \cdot}$
synthetisch gewonnene Chondrosaminsäure ist mit de
des natürlich vorkommenden Chondrosamins erhal

b) Xylohexosaminsäuren[15, 34]

Die spezifische Drehung des Säuregemisches bet

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}07 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +3{,}$$

Trennung der Epimeren. 280 g des Sä
in sehr wenig Wasser und fügt solange Methylal
krystallinischer Niederschlag zu bilden beginnt
und zeigt die Drehung $[\alpha]_D^{20} = +5{,}0°$. Die
vermindertem Druck zur Trockene gebracht.
sehr geringen Menge Wasser aufgenommen
wobei ein Niederschlag ausfällt, der durch
und die Drehung $[\alpha]_D^{20} = 2{,}00°$ hatte.

180 g dieser Substanz wurden in 300
Der beim Abkühlen ausgeschiedene Nied
von $[\alpha]_D^{20} = -1{,}0°$. 110 g dieser Substanz
heißen Wassers umgelöst, wobei sich ein
bildete, der die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20}$
Reinigung änderte sich die Drehung
schmolz bei 200° (unkorrigiert) unter G
Zusammensetzung:

0,100 g Substanz ergaben 0,1354 g CO
0,100 g Substanz erforderir zur Neutr

Berechnet für $C_6H_{13}NO$
C = 36,92%
H = 6,66%
N = 7,18%

Die spezifische Drehung betrug
im Anfang $[\alpha]_D^{20} = \frac{0{,}22 \cdot}{1 \cdot}$

im Gleichgewichtszustand

Der Verlauf der Fraktionie
Tabelle dargestellt:

Säuregem

$[\alpha]_D$ +5 (Nr. 614)
|
$[\alpha]_D$ +14,0 (Nr. 627)
|
14,0 (Nr. 628

uren.[25])

e Form
er sollen

len Wassers
n. Die Aus-
nung:

rehenden Form

n zeigte dieselbe
ie aus dem reinen

n kochenden Wassers
drehenden Form aus-
nung von

nicht.
saminsäure. Die Sub-
njenigen des Cholesterins
aber unlöslich in den ge-
d schmilzt bei 212° (unkor-

hexosaminsäurelactons.
ig getrockneter und feingepul-
ohols schickt man 15 Minuten
uregases, wobei die Säure fast
Lösung wird unter vermindertem
ur so lange eingedampft, bis die
krystallisieren beginnt. Der Inhalt
rt, die man über Nacht im Exsiccator
Die Ausbeute an Lacton betrug 12 g.
t) und hat folgende Zusammensetzung:
04 g CO_2 und 0,0592 g H_2O.
zur Neutralisation 8,74 ccm 0,1 n-Säure (be-
Kjeldahl).
ndern 9 ccm 0,1 n-$AgNO_3$.

ur $C_6H_{12}NO_5Cl$	Gefunden
33,71%	33,05%
5,67%	6,17%
6,55%	6,12%
16,25%	15,96%.

Die spezifische Drehung der Substanz betrug

$$[\alpha]_D^{20} = + \frac{0{,}28 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +14°.$$

Monobenzal-d-laevo-xylohexosaminsäure-lacton-chlorhydrat. Man leitet in eine Lösung von 2,5 g der d-Laevo-hexosaminsäure in 15 ccm 99,5 proz. Alkohols und 3 ccm Benzaldehyds Salzsäuregas ein, wobei die Aminosäure allmählich in Lösung geht. Nach einiger Zeit erstarrt die ganze Lösung augenblicklich. Nach einer Stunde fügt man 2 ccm über Natrium getrockneten Äther hinzu und läßt das Reaktionsgemisch weitere 2 Stunden stehen. Das Lacton wird abfiltriert und aus Methylakohol umkrystallisiert. Es schmilzt bei 206° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung.

0,1023 g Substanz gaben 0,1938 g CO_2 und 0,0508 g H_2O.
0,1000 g Substanz erfordern zur Neutralisation 3,34 ccm $n/_{10}$-Salzsäure.

Berechnet für $C_{13}H_{15}NO_6 . HCl = 301{,}6$	Gefunden
C = 51,72%	51,81%
H = 5,35%	5,57%
N = 4,69%	4,68%.

Die spezifische Drehung der Substanz in 50 proz. Alkohol betrug

$$[\alpha]_D^{20} = - \frac{1{,}21 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -60{,}5°.$$

Umwandlung des Lactons in die freie Säure. Man erwärmt eine Lösung von 10 g getrocknetem Chlorhydrat des Monobenzallactons in 50 ccm Wasser unter Zusatz von 12,5 g Bariumhydroxyd (entsprechend 5 g Ba) auf dem Wasserbad, wobei die Lösung sich unter Ammoniakentwicklung gelb färbt. Der Versuch wird daher nach 7 Minuten unterbrochen und mit Schwefelsäure angesäuert. Das Filtrat von Bariumsulfatniederschlag wurde wiederholt mit Äther ausgeschüttelt und die wässerige Lösung quantitativ von der Schwefelsäure und Salzsäure befreit. Nach Eindampfen des Filtrates krystallisiert die Aminosäure auf Zusatz von heißem Methylalkohol. Sie schmilzt bei 200° (unkorrigiert) unter Gasentwicklung und hat folgende Zusammensetzung:

0,1000 g Substanz gaben 0.1354 g CO_2 und 0,0600 g H_2O.
0 0100 g Substanz geben 1,36 ccm N bei 35° und 762 mm Druck (nach van Slyke).

Berechnet für $C_6H_{13}NO_6$	Gefunden
C = 36,92%	36,98%
H = 6,6%	6,71%
N = 7,18%	7,16%

Die spezifische Drehung der Substanz betrug

im Anfang $[\alpha]_D^{20} = - \frac{0{,}22 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -11{,}0°$,

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = - \frac{0{,}6 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -30°$.

c) Ribohexosaminsäuren.[25])

Die spezifische Drehung des Säuregemisches war

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}16 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -8{,}0°.$$

Trennung der beiden Säuren.

Laevo-d-ribohexosaminsäure ist die weniger lösliche Form und läßt sich daher ohne große Schwierigkeiten darstellen. Hier sollen nur 2 Versuche wiedergegeben werden.

1. Versuch. 57 g des Säuregemisches werden in 70 ccm kochenden Wassers gelöst und zur Krystallisation eine Nacht lang sich selbst überlassen. Die Ausbeute betrug 22 g. Die Substanz zeigte folgende spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}52 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -26{,}0°$, ein Wert, der der reinen linksdrehenden Form zukommt. Die durch weitere Krystallisation gereinigte Fraktion zeigte dieselbe Drehung und, wie später gezeigt werden wird, besitzt auch die aus dem reinen Lacton dargestellte Säure die gleiche spezifische Drehung.

2. Versuch. 142 g des Säuregemisches werden in 300 ccm kochenden Wassers gelöst, woraus sich beim Stehen über Nacht 35 g der linksdrehenden Form ausscheiden. Auch dieses Produkt wies eine spezifische Drehung von

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}52 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -26°$$

auf, und änderte bei weiterer Reinigung diesen Wert nicht.

Eigenschaften der Laevo-d-ribohexosaminsäure. Die Substanz krystallisiert in dünnen Platten, die denjenigen des Cholesterins sehr ähnlich sind. Sie ist löslich in Wasser, aber unlöslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln und schmilzt bei 212° (unkorrigiert) unter Zersetzung.

Chlorhydrat des Laevo-d-ribohexosaminsäurelactons. Durch eine Suspension von 12 g sorgfältig getrockneter und feingepulverter Säure in 600 ccm 99,5 proz. Alkohols schickt man 15 Minuten lang einen Strom getrockneten Salzsäuregases, wobei die Säure fast augenblicklich in Lösung geht. Diese Lösung wird unter vermindertem Druck bei gewöhnlicher Temperatur so lange eingedampft, bis die Substanz im Destillationskolben zu krystallisieren beginnt. Der Inhalt wird dann in eine Schale übergeführt, die man über Nacht im Exsiccator über Schwefelsäure stehen läßt. Die Ausbeute an Lacton betrug 12 g. Es schmilzt bei 188° (unkorrigiert) und hat folgende Zusammensetzung:

0,1076 g Substanz gaben 0,1304 g CO_2 und 0,0592 g H_2O.
0,2000 g Substanz erfordern zur Neutralisation 8,74 ccm 0,1 n-Säure (bestimmt nach Kjeldahl).
0,2000 g der Substanz erfordern 9 ccm 0,1 n-$AgNO_3$.

Berechnet für $C_6H_{12}NO_5Cl$	Gefunden
C = 33,71%	33,05%
H = 5,67%	6,17%
N = 6,55%	6,12%
Cl = 16,25%	15,96%.

Die Substanz enthielt noch 0,46% mineralischer Verunreinigungen. Eine Eigentümlichkeit zeigte das Lacton bei der Stickstoffbestimmung nach van Slyke. Es wurden nur 4,71% Stickstoff gefunden, selbst wenn man die Reaktion 30 Minuten lang dauern ließ. Die Drehung der Substanz betrug $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}22 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -11{,}0°$.

Überführung des Lactons in die freie Säure. Eine Lösung von 50 g des salzsauren Lactons mit 50 ccm Wasser wird mit einem Überschuß von Bariumhydroxyd behandelt und bleibt über Nacht stehen. Nach Ausfällung des Bariums und der Salzsäure dampft man die wässerige Lösung bis zur Krystallisation ein. Das erhaltene Produkt wird zur Analyse nochmals aus Wasser unter Zusatz von wenig Alkohol umkrystallisiert. Nach 3 Krystallisationen wurde die Substanz, die nun den Schmelzpunkt 212° (unkorrigiert) zeigte, analysiert und ergab folgende Werte:

0,1010 g Substanz gaben 0,1364 g CO_2 und 0,1010 g H_2O.
0,1990 g der Substanz erfordern zur Kjeldahlbestimmung 10,10 ccm 0,1 n-Säure (bestimmt nach Kjeldahl).

Berechnet für $C_6H_{13}NO_5$	Gefunden
C = 36,92%	36,83%
H = 6,66%	7,04%
N = 7,18%	7,10%.

Die spezifische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}52 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -26{,}0°$.

Dextro-d-ribohexosaminsäure. Die Abscheidung der rechtsdrehenden Form erwies sich viel schwieriger als die des Epimeren und war mit einem beträchtlichen Substanzverlust verknüpft. Man arbeitete schließlich nach folgendem Verfahren: Alle Fraktionen der spezifischen Drehung über 0,0° wurden vereinigt in ungefähr dem 5—8fachen Volumen heißen Wassers gelöst und mit Methylalkohol bis zum Auftreten schwacher Opalescenz versetzt. Die Lösung wurde dann in ein kochendes Wasserbad gestellt, wobei die Substanz krystallisierte. Der krystallisierte Niederschlag wurde filtriert solange die Mutterlauge noch warm war. Diese Behandlung wurde solange wiederholt, bis eine konstante Drehung erzielt wurde. Diese betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}25 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +12{,}5°$

Nach dreimaligem Umkrystallisieren blieb die Drehung unverändert. Wie man später gezeigt hat, besitzt die aus dem Lacton erhaltene Substanz dieselbe spezifische Drehung. Sie hat den Schmelzpunkt 186° und ergibt bei der Analyse folgende Zahlen:

0,1057 g Substanz gaben 0,1422 g CO_2 und 0,0626 g H_2O.
0,2000 g Substanz erfordern bei der Kjeldahl-Bestimmung 10,2 ccm 0,1 n-Säure.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_5$	Gefunden
C = 36,92%	36,70%
H = 6,66%	6,63%
N = 7,18%	7,14%

Chlorhydrat des Lactons der Dextro-d-ribohexosaminsäure. Man schickt durch eine Suspension von 5 g unter vermindertem Druck bei 50° sorgfältig getrockneter und feinpulverisierter Säure in 300 ccm 99,5 proz. Alkohols einen trockenen Salzsäurestrom, wobei fast augenblicklich Lösung erfolgt. Man leitet noch weitere 7 Minuten Salzsäuregas ein und konzentriert dann unter vermindertem Druck, bis sich ein beträchtlicher amorpher Bodensatz in dem Destillierkolben abgeschieden hat. Man gießt ihn mit der Mutterlauge in einen Erlenmeyerkolben, worin er bei längerem Stehen seine Masse vermehrt, ohne jedoch krystallinisch zu werden. Beim Erwärmen geht er wieder in Lösung und setzt sich nach längerem Stehen auf dem Wasserbad in Form derber Krystalle ab. Die Substanz hat den Schmelzpunkt 150° (unkorrigiert) und ergibt bei der Analyse folgende Zahlen:

0,0977 g Substanz geben 0,1212 g CO_2 und 0,0546 g H_2O.
0,1872 g Substanz erfordern für die Kjeldahl-Bestimmung 8,85 ccm 0,1 n-Säure.

Berechnet für $C_6H_{12}NO_5Cl$	Gefunden
C = 33,71%	33,83%
H = 5,67%	6,25%
N = 6,55%	6,62%

Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}43 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +21{,}5°$.

Umwandlung des Lactons in die Dextro-d-ribohexosaminsäure. Eine Lösung von 3 g des salzsauren Lactons in 25 ccm Wasser wird mit Bariumoxyd alkalisch gemacht und am nächsten Tage nach Entfernung des Bariums und der Salzsäure auf ein kleines Volumen eingeengt. Zu dieser konzentrierten Lösung fügt man Alkohol bis zur Opalescenz hinzu und stellt die Lösung in ein kochendes Wasserbad, bis sich ein schwerer krystallinischer Niederschlag abgesetzt hat. Die Ausbeute betrug 2,0 g. Der Schmelzpunkt der Substanz liegt bei 186°. Ihre spezifische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}25 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +12{,}5°$.

Schmelzpunkt und spezifische Drehung der über das Lacton gereinigten Säure ist also identisch mit den Daten des ursprünglichen Ausgangsmaterials.

Dibenzal-dextro-d-ribohexosaminsäure-äthylester-chlorhydrat. Die rechtsdrehende Form unterscheidet sich von ihrem Epimeren dadurch, daß sie die Dibenzalverbindung unter den gleichen Bedingungen bildet, unter denen die Linksform in das salzsaure Lacton übergeht. 2 g sorgfältig gereinigter und getrockneter Säure suspendiert man in

20 ccm 99,5 proz. Alkohol, dem man 2,5 ccm frisch destillierten Benzaldehyds hinzufügt, und leitet durch die Lösung einen Strom getrockneten Salzsäuregases. Nachdem die Säure schnell in Lösung gegangen ist, setzt man die Behandlung noch 7 Minuten fort. Die leicht getrübte Lösung bleibt über Nacht stehen und scheidet dabei einen krystallinischen Niederschlag aus, der aus mikroskopisch kleinen Nadeln besteht. Er wird abfiltriert, mit Alkohol und Äther gewaschen und zeigt den Schmelzpunkt 221° (unkorrigiert). Bei der Analyse ergibt er folgende Zahlen:

0,1069 g Substanz geben 0,3270 g CO_2 und 0,0602 g H_2O.
0,1978 g Substanz erfordern für die Kjeldahl-Bestimmung 4,6 ccm 0,1 n-Säure.

Berechnet für $C_{22}H_{26}NO_6Cl$	Gefunden
C = 60,65%	60,48%
H = 6,34%	6,31%
N = 3,20%	3,25%

Die spezifische Drehung der in Methylalkohol gelösten Substanz betrug

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}26 \cdot 100}{1 \cdot 1} = -26{,}0°.$$

Aus den Mutterlaugen des Dibenzalderivates scheidet sich beim Stehen eine zweite Portion von Krystallen ab, welche nach einmaligem Umkrystallisieren die Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften des salzsauren Lactons der Dextro-d-ribohexosaminsäure aufwiesen. Diese Beobachtung ist insofern von Wichtigkeit, als sie eine weiteren Beweis für die Reinheit der Dextro-d-ribohexosaminsäure liefert. Die Substanz ergab bei der Analyse folgende Werte:

0,0942 g Substanz gaben 0,1174 g CO_2 und 0,0512 g H_2O.
0,0918 g Substanz erfordern für die Kjeldahl-Bestimmung 4,5 ccm 0,1 n-Säure.

Berechnet für $C_6H_{12}NO_5Cl$	Gefunden
C = 33,71%	33,99%
H = 5,67%	6,08%
N = 6,55%	6,86%

Die spezifische Drehung der Substanz in 2,5 proz. Salzsäure betrug

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}43 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +21{,}5°.$$

3. Synthese der Hexosamine[26, 27, 28]).

a) Chitosamin[26]).

Zur Darstellung aller Lactone der Hexosaminsäuren muß man stets von sehr reinem Material ausgehen. Die zu diesen Versuchen verwendete Glucosaminsäuren waren mehrere Male aus Wasser umkrystallisiert worden. Durch eine Lösung von 5 g der Säure in 50 ccm 99,5 proz. Alkohols schickt man einen lebhaften Strom getrockneten Salzsäuregases, wobei die Säure schnell in Lösung geht. Bald darauf flockt ein

Niederschlag aus, der aber beim kräftigen Schütteln bald wieder verschwindet. Danach bleibt die Lösung eine Zeitlang klar, wird aber schließlich ganz trübe. In diesem Zeitpunkt ist es ratsam, den Kolben in eine Kältemischung einzutauchen, ohne aber die Zuführung von Salzsäuregas zu unterbrechen. Bald darauf scheidet sich das Lacton aus. Zur Beendigung der Krystallisation läßt man das Reaktionsgemisch über Nacht im Eisschrank stehen. Das Lacton wird vor der Filtration durch Dekantieren mit 99,5 proz. Alkohol und mit trocknem Äther gewaschen und im Vakuumexsiccator getrocknet. Man kann dann die Arbeit mit reinem Lacton fortsetzen. Es zeigt sich jedoch, daß dieses Verfahren keinen Vorteil vor der weniger mühsamen Methode von Fischer und Leuchs besitzt. Bei den meisten Versuchen wurde daher die letztere Methode angewendet.

Isolierung des salzsauren Glucosamins. 0,5 g des salzsauren Lactons werden mit 40 g 2 proz. Natriumamalgam reduziert und dann mit Salzsäure neutralisiert. Die Reduktion wurde in einem mit Kältemischung gekühlten Kessel ausgeführt, der mit einem mechanischen Rührwerk versehen war. Das Ende des Versuches wurde durch Prüfung mit Fehlingscher Lösung festgestellt. Die Lösung zeigte dann ein Reduktionsvermögen, das dem von 1,9 g Glykose äquivalent war. Das Reaktionsprodukt wird dann fast bis zur Trockenheit eingeengt, der Rückstand mit ungefähr 30 ccm Methylalkohol aufgenommen und tropfenweise mit konzentrierter Salzsäure versetzt. Der Kolben wird dann vorsichtig über freier Flamme erwärmt bis die sirupöse Masse in ein weißkrystallinisches Pulver übergegangen ist. Das abfiltrierte Salz enthielt beträchtliche Mengen Zucker, die durch ihr Reduktionsvermögen gegenüber Fehlingscher Lösung festgestellt wurden. Die Mutterlauge schied beim Stehen im Eisschrank einen Niederschlag von praktisch reinem Glucosaminchlorhydrat ab.

0,1030 g Substanz gaben 0,1246 g CO_2, 0,0600 g H_2O und 0,0026 g (= 2,55%) Asche.

Berechnet für $C_6H_{13}NO_5HCl$	Gefunden
C = 33,40%	33,85%
H = 6,54%	6,69%

In einigen anderen Versuchen enthielt der Zucker mehr Salz. Dieser Versuch zeigt, daß es möglich ist, unter den günstigsten Bedingungen das Glucosaminchlorhydrat direkt aus dem Reduktionsprodukt in reiner Form zu isolieren.

Darstellung des Pentabenzoylderivates. Das für diesen Zweck verwendete Ausgangsmaterial wurde aus mehreren Reduktionsversuchen gewonnen, bei denen sowohl Kalium- als auch Natriumamalgam und zur Neutralisation Salzsäure verwendet worden war. Das Reaktionsprodukt war wie in dem oben beschriebenen Versuch auf-

gearbeitet worden. Zur Benzoylierung wurden nur Fraktionen, die Zucker und Salz enthielten, verwendet.

6,5 g des Zuckers (bestimmt mit Fehlingscher Lösung) werden mit 140 ccm Wasser aufgenommen und mit 25 ccm Benzoylchlorid und 40 ccm 50 proz. Natronlauge versetzt. Diese Mischung wird unter ständiger Kühlung $1^1/_2$ Stunden geschüttelt und dann über Nacht in eine Schüttelmaschine eingespannt. Das Benzoylderivat, welches sich in Form trockner weißer Klumpen abgeschieden hat, wäscht man mit Wasser, löst es in Chloroform und schüttelt im Scheidetrichter mit Wasser aus. Die Chloroformlösung wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wird in 4 Litern 98 proz. Alkohols gelöst, woraus er sich beim Abkühlen in langen farblosen Nadeln abscheidet. Die Mutterlauge liefert beim Einengen einen zweiten Niederschlag. Die Substanz schmilzt bei 216° und hat folgende Zusammensetzung:

0,1012 g Substanz gaben 0,2606 g CO_2, und 0,0453 g H_2O.
0,2530 g Substanz erfordern 5.05 ccm 0,1 n-Säure (nach Kjeldahl).

Berechnet für $C_6H_8NO_5(C_6H_5CO)_5$	Gefunden
C = 70.38%	70,23%
H = 4.73%	5,00%
N = 2,00%	1,99%

Die spezifische Drehung der Substanz in Pyridin betrug

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}58 \cdot 1{,}9992}{0{,}5 \cdot 0{,}0522} = +44{,}4°.$$

Das Benzoylderivat ist von früheren Bearbeitern bereits in das Chlorhydrat des Glucosamins übergeführt worden, so daß es nicht von Wichtigkeit war, diese Umwandlung bei dieser Gelegenheit zu wiederholen.

b) Chondrosamin.[27, 28])

15 g Lyxohexosaminsäure werden auf drei kleine Kolben verteilt, von denen jeder 5 g Säure und 50 ccm 99,5 proz. Alkohol enthält. Man leitet in alle drei einen lebhaften Strom getrockneten Salzsäuregases ein, wobei die Bildung des Lactons in derselben Weise wie beim Glucosamin von statten geht. Nachdem die Reaktionsmischung über Nacht gestanden hat, wird sie mit destilliertem Wasser in einen Destillierkolben übergespült und mit 150 g 2,5 proz. Natriumamalgams reduziert. Am Schluß des Versuches zeigte die Lösung ein Reduktionsvermögen, das dem von 6,5 g Glucose entsprach.

Das Reduktionsprodukt wurde im Vakuum bis zur Trockenheit eingedampft, wobei darauf zu achten ist, daß die Temperatur des Wasserbades 40° nicht übersteigt.

Der in 75 ccm Methylalkohol gelöste Rückstand wird mit konzentrierter Salzsäure tropfenweise versetzt, bis der Sirup gelöst und das

Kochsalz sich in Form eines weißen krystallinischen Pulvers ausgeschieden hat. Der erste Niederschlag zeigte kein Reduktionsvermögen. Das Filtrat wurde daher wieder eingedampft und mit 99,5 proz. Alkohols und Salzsäure wie vorher behandelt. Allmählich scheidet sich eine ölige Masse aus, die im Laufe der Nacht krystallinisch wird. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen und die krystallinische Masse mit Methylalkohol verrieben. Sie besteht aus langen schweren Prismen mit nadelscharfen Spitzen. Die Substanz verbrennt wie Kohlenhydrate und hinterläßt einen kleinen Aschenrückstand. Die von den Krystallen abgegossene Flüssigkeit scheidet an den Wandungen und am Boden des Gefäßes einen krystallinischen Niederschlag aus, der dasselbe Aussehen besitzt wie die vorhin beschriebene Krystallmasse. Beim Verbrennen hinterläßt er praktisch keine Asche. Die Substanz wird in wenig Wasser gelöst und mit 99,5 proz. Alkohol, der mit Salzsäuregas gesättigt ist, in kleinen Portionen versetzt, bis beim Anreiben die Krystallisation des Zuckers beginnt, der sich in der vorhin beschriebenen Form ausscheidet. Die Substanz schmilzt bei 185° (korrigiert) und besitzt folgende spezifische Drehung:

$$\text{Im Anfang } [\alpha]_D^{25} = +\frac{1{,}5 \cdot 2{,}0392}{1{,}0 \cdot 0{,}0516} = +59{,}30°.$$

$$\text{Im Gleichgewichtszustand } [\alpha]_D^{25} = +\frac{2{,}18 \cdot 2{,}0392}{1{,}0 \cdot 0{,}0516} = +98{,}80°.$$

0,1050 g Substanz (im Vakuumexsiccator bei 25° über Schwefelsäure getrocknet) gaben 0,1284 g CO_2 und 0,0604 g H_2O.
0,0244 g Substanz gaben 2,94 ccm N bei 22° und 762 mm.
0,0820 g Substanz erfordern 3,7 ccm 0,1 n-$AgNO_3$-Lösung.

Berechnet für $C_{12}H_{13}O_5N.HCl$	Gefunden
C = 33,4 %	33,35 %
H = 6,54 %	6,39 %
N = 6,51 %	6,74 %
Cl = 16,45 %	15,98 %

Die Mutterlauge der krystallinischen Masse wurde unter vermindertem Druck eingedampft, sie enthielt 3 g Zucker, der in 400 ccm Wasser gelöst und mit 8 g Phenylhydrazin in Eisessig versetzt wurde. Das Reaktionsgemisch ließ man 4 Stunden auf dem Wasserbad stehen, wobei bereits die Ausscheidung des Osazons begann. Nach dem Abkühlen scheidet sich die Hauptmenge als voluminöser Niederschlag ab, der in 400 ccm kochenden Wassers und der zur vollständigen Lösung hinreichenden Menge Pyridin gelöst wurde. Nach dreimaligem Umkrystallisieren bildet es lange Platten mit spitzen Ecken und enthält keine Öltropfen mehr. Das Osazon wird dann auf einem Saugtrichter gesammelt, mit einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Äther behandelt und abermals filtriert. Es besteht dann aus hell orangegelben glitzernden Platten. Es schmilzt bei 201° und zersetzt sich bei 202°

(korrigiert). Ein Gemisch desselben mit dem Osazon aus Chondrosamin und mit Galaktosazon zeigte denselben Schmelz- und Zersetzungspunkt.

0,1006 g Substanz gaben 14,2 ccm N bei 29° und 757 mm.

Berechnet für $C_{18}H_{24}N_4O_4$	Gefunden
N = 15,64%	15,80%.

Zur Bestimmung der spezifischen Drehung wurde 0,05 g Substanz in 5 ccm der Neubergschen Pyridin-Alkoholmischung gelöst. Die anfängliche Drehung betrug +0,36°, nach 24 Stunden +0,03° (das optische Verhalten der Substanz wurde nicht weiter verfolgt.)

α- und *β*-Formen des salzsauren Chondrosamins. Eine aus Wasser und mit Salzsäure gesättigten Äthylalkohol umkrystallisierte Probe von Chondrosamin zeigte im Anfang eine Drehung von

$$[\alpha]_D^0 = +\frac{1{,}54 \cdot 2{,}0385}{1 \cdot 0{,}0516} = +53{,}14°,$$

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{25} = +\frac{2{,}28 \cdot 2{,}0392}{1 \cdot 0{,}0514} = +90{,}42°$.

Eine Probe wurde in einer geringen Menge Wasser gelöst und mit Eisessig solange vermischt, bis die Substanz zu krystallisieren begann, die Mischung aufgekocht und filtriert. Der Rückstand wird genau zu 2,5 ccm gelöst und zeigte folgende Werte für die spezifische Drehung:

$$\text{Im Anfang } [\alpha]_D^0 = +\frac{3{,}04 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}125} = +60{,}4°,$$

$$\text{im Gleichgewichtszustand } [\alpha]_D^{25} = +\frac{4{,}5 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}125} = +90°.$$

Eine aus sehr wenig wässeriger Salzsäure umkrystallisierte Probe zeigte im Anfang $[\alpha]_D^0 = +\frac{2{,}60 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}1272} = +57{,}10°$,

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{25} = +\frac{4{,}8 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}1272} = +94{,}2°$.

Es wurde kein Versuch unternommen, um die leichten Abweichungen zu erklären, da der Hauptzweck in der Auffindung der Bedingungen bestand, die den Nachweis der einen oder der anderen Form gestatteten. Da alle Versuche fehlschlugen, eine Probe von der ursprünglichen Drehung wieder zu erhalten, wurde die Drehung des ursprünglichen Materials noch einmal bestimmt. Dr. J. Lopez-Suarez und Dr. G. M. Meyer kontrollierten die Versuchsprotokolle.

$$\text{Im Anfang } [\alpha]_D^0 = +\frac{2{,}5 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}0500} = +125{,}0°,$$

$$\text{im Gleichgewichtszustand } [\alpha]_D^{25} = +\frac{1{,}9 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}0500} = +95{,}0°.$$

Wenn man auf Grund der Hudsonschen Formel die Molekularrotation des endständigen Kohlenstoffatoms berechnet, erhält man den Wert

$\frac{(129{,}0 - 51)}{2} \cdot 215{,}5 = 8{,}400$. Der von Hudson für Hexosen gefundene Wert lag in der Nachbarschaft von 8,000. Die ursprüngliche Form ist als die α-Form, die neue als die β-Form zu bezeichnen.

Pentacetylderivat des synthetischen Chondrosamins. Aus natürlichem Chondrosamin ist die Substanz von Houdson und Dale[29]) dargestellt worden. Dieselben Versuchsbedingungen wurden auch bei dieser Arbeit innegehalten. Zu einer Lösung von 5 g Chlorzink in 30 ccm Essigsäureanhydrid fügt man 5 g des Chlorhydrates und erwärmt vorsichtig bis die Reaktion lebhaft zu werden beginnt. Nach 2 Minuten gießt man das Reaktionsprodukt in 100 ccm Wasser von 0°. Die Mischung wird mit Kaliumbicarbonat neutralisiert und im Scheidetrichter mit Chloroform ausgeschüttelt und der Chloroformextrakt mit Wasser gewaschen. Über der Chloroformschicht scheidet sich eine Lage von Krystallen ab, welche in Wasser unlöslich waren. Die Krystalle bestanden aus der weniger löslichen Fraktion des Penta-acetats. Der chloroformische Auszug wurde sodann unter vermindertem Druck zur Trockenheit gebracht, der Rückstand aus Alkohol umkrystallisiert. Die Mutterlauge ergibt eine zweite Fraktion von Krystallen. Die erste Fraktion bestand aus reiner α-Form, während die leichter lösliche die praktisch reine β-Form darstellt. Die α-Form färbte sich beim Erhitzen auf 232° leicht braun und schmolz unter Zersetzung bei 237° (korrigiert). Ihre spezifische Drehung in Chloroform betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}07 \cdot 20{,}0}{2 \cdot 0{,}0802} = +8{,}75°$. Eine ähnliche Fraktion aus natürlichem Chondrosamin hatte den Schmelzpunkt 235° und die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}09 \cdot 20}{2 \cdot 0{,}075} = +12°$. Houdson und Dale hatten für ihre β-Form den Schmelzpunkt 235° (unter Zersetzung) und $[\alpha]_D = +11{,}00°$ gefunden.

Die β-Form war augenscheinlich nicht ganz rein. Wenn man aber in Betracht zieht, von welcher geringen Menge Substanz man ausgegangen war, so überrascht es, daß jede der beiden Formen mit so geringer Schwierigkeit isoliert werden konnte. Der Schmelzpunkt der β-Form lag sehr scharf bei 197° und die spezifische Drehung in Chloroform betrug $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}90 \cdot 20{,}0}{2 \cdot 1{,}0} = +90°$. Houdson und Dale fanden für die β-Form den Schmelzpunkt 182—183° und $[\alpha]_D = 101{,}3°$.

0,1014 g Substanz gaben 0,1834 g CO_2 und 0,0560 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8NO_5(CH_3CO)_5$	Gefunden
C = 49,49%	49,32%
H = 5,96%	6,18%

c) Epichitosamin.[21])

Die Reduktion des Lactons zum Zucker wurde in derselben Weise ausgeführt wie oben beschrieben. 10 g des salzsauren Lactons wurden in 60 ccm Wasser aufgenommen und mit 125 g 2 proz. Natriumamalgams reduziert. Die Reaktion der Lösung wurde durch Zufügen geringer Mengen von Salzsäure in kurzen Zwischenräumen ständig sauer gehalten. Die vom Quecksilber filtrierte Flüssigkeit wird unter vermindertem Druck bei Zimmertemperatur eingedampft. Dabei muß man darauf achten, daß die Lösung während des Eindampfens farblos bleibt. Das Chlornatrium wird durch fraktionierte Fällung erst mit Methylalkohol und dann mit Äthylalkohol entfernt. Nachdem das Produkt soweit gereinigt war, daß es bei der Veraschung keinen sichtbaren mineralischen Rückstand hinterließ, wurde es ein- oder zweimal aus Wasser umkrystallisiert.

0.1042 g Substanz gaben 0,1298 g CO_2 und 0,0614 g H_2O.
0,010 g Substanz gaben 1,18 ccm N bei 21° und 765 mm (nach van Slyke bestimmt).
0,020 g Substanz gaben in 5 Minuten 2,43 ccm N bei 25° und 764 mm (nach van Slyke). Der Schmelzpunkt betrug 187° (korrigiert).

Berechnet für $C_6H_{13}NO_5.HCl$	Gefunden	I	II	III
C = 33,40%	—	—	33,97%	—
H = 6,54%	—	—	6,61%	—
N = 6,51%	—	6,73%	—	6,78%
Cl = 16,45%	—	—	—	—

Die spezifische Drehung der Substanz in 5 proz. Salzsäure betrug

im Anfang $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0,47 \cdot 100}{1 \cdot 10} = -4,7°$,

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0,47 \cdot 100}{1 \cdot 10} = -4,7°$.

Darstellung des Osazons. 4,6 g des Zuckerchlorhydrats werden mit 200 ccm Wasser aufgenommen, die Lösung mit Natriumacetat neutralisiert und mit einer Lösung von 8 g Phenylhydrazin in 50 ccm Eisessig versetzt, das ganze stellt man eine Stunde lang in ein kochendes Wasserbad. Das gebildete Osazon wird aus Methylalkohol umkrystallisiert und zeigt bei schnellem Erhitzen den Schmelzpunkt 205°.

0,100 g der Substanz ergaben 0,2202 g CO_2 und 0,0580 g H_2O.

Berechnet für $C_{18}H_{21}N_4O_4$	Gefunden
C = 60,33%	60,05%
H = 6,14%	6,49%.

Eine Lösung von 0,1 g in 10 ccm der Neubergschen Pyridin- und Alkoholmischung zeigte im Anfang eine Drehung von $[\alpha]_D$ — 0,31°, im Gleichgewichtszustand von —0,15°, welche mit den für das Glucosazon gefundenen Werten im Einklang steht.

d) Dextro-xylohexosamin[26]).

Das Lacton wurde in derselben Weise wie das der Chitosaminsäure dargestellt. Auch die Reduktion wurde wie oben beschrieben ausgeführt, jedoch blieben alle Versuche, eine von Lacton freie Fraktion zu erhalten, bis jetzt erfolglos. Wenn Salzsäure zur Neutralisation verwendet wurde, schied sich das Kochsalz stets frei von Zucker aus, wenn Schwefelsäure verwendet wurde, krystallisierten Salz, Lacton und Zucker in der gleichen Fraktion. Eine Lösung, die ungefähr 6 g des Aminozuckers und 1 g Aminostickstoff enthielt, wurden in 100 ccm Wasser aufgenommen und mit 80 ccm Benzoylchlorid und 110 ccm 50 proz. Natronlauge versetzt. Die Benzoylierung verläuft wie beim Versuch mit Glucosamin. Das Endprodukt wird in Methylalkohol gelöst und mit Äther als Öl ausgefällt. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen und schied beim freiwilligen Verdunsten einen Niederschlag von weißen Nadeln aus, die abfiltriert und einmal aus 99,5 proz. Alkohol umkrystallisiert wurden. Die Substanz schmilzt bei 162° und hat folgende Zusammensetzung:

0,1012 g Substanz gaben 0,2632 g CO_2 und 0,0416 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8NO_5(C_6H_5CO)_5$	Gefunden
C = 70,38%	70,93%
H = 4,73%	4,60%

Die spezifische Drehung war die folgende:

$$[\alpha]_D^{20} = +\frac{1{,}1 \cdot 1{,}9422}{0{,}5 \cdot 0{,}0550} = +77{,}6°.$$

Osazon des Xylohexosamin. Eine Lösung von 2,5 g Aminozucker in 250 ccm Wasser versetzt man mit 6 g Phenylhydrazin und Eisessig und erwärmt 4 Stunden auf dem Wasserbad. Beim Abkühlen scheidet sich das Osazon aus, das 4 mal aus Wasser und Pyridin umkrystallisiert wurde. Es besteht aus gekrümmten Nadeln. Die Substanz wurde mit wenig Alkohol und Äther aufgenommen und durch Verdampfen des Lösungsmittels in Form eines glänzenden citronengelben Niederschlages erhalten. Er schmolz bei 173° (korrigiert) und zersetzte sich bei 185°.

0,1000 g Substanz gaben 0,2208 g CO_2 und 0,0560 g H_2O.

Berechnet für $C_{18}H_{24}N_4O_4$	Gefunden
C = 60,33%	60,21%
H = 6,14%	6,22%

1 g Substanz in 5 ccm der Neubergschen Alkohol-Pyridinlösung gelöst, zeigte anfangs eine Drehung von $\alpha = +0{,}07°$ und nach 40 Stunden $\alpha = +0{,}45°$.

4. 2,5-Anhydro-pentoxy-capronsäuren.

a) 2,5-Anhydro-mannonsäure und 2,5-Anhydro-gluconsäure.

Von diesen Reihen sind bisher nur 4 Vertreter dargestellt worden, zwei, die Chiton- und Chitarsäure von Tiemann und von Fischer.

Aus dem folgenden Abschnitt ist zu ersehen, daß die Chitonsäure zur 2,5-Anhydro-mannozuckersäure und die Chitarsäure zur 2,5-Anhydrozuckersäure oxydierbar ist, daß also der Chitonsäure die Konfiguration der Anhydro-mannonsäure, der Chitarsäure die Konstitution der Anhydrogluconsäure zukommt. Auf Grund der Erfahrungen mit Chitosamin sollten Epichitosamin und Epichitosaminsäure 2,5-Anhydro-gluconsäure bzw. 2,5-Anhydro-mannonsäure bilden. Die Erwartung bezüglich des Epichitosamins ließen sich verwirklichen. Es ging bei der Desaminierung in Anhydro-mannonsäure über. Auch das Lacton ergab wider Erwarten Anhydro-mannonsäure.

Desaminierung der Epichitosaminsäure[30]). Die nach der Desaminierung erhaltene Mutterlauge wurde mit Hilfe von Aluminiumamalgam nach der Methode von Levene und Meyer reduziert, die so gewonnene Lösung mit Calciumcarbonat neutralisiert und unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen eingeengt. Das Calciumsalz hatte die folgende Zusammensetzung:

0,1020 g Substanz ergaben 0,1244 g CO_2, 0,0482 g H_2O und 0,0134 g CaO.

Berechnet für $(C_6H_9O_6)_2Ca + 2H_2O$	Gefunden
C = 33,49%	33,26%
H = 5,12%	5,07%
Ca = 9,3 %	9,38%

Die spezifische Drehung der Substanz betrug:

$$[\alpha]_D^{20} = + \frac{0{,}71 \cdot 100}{1 \cdot 2} = + 35{,}5°.$$

Unter denselben Versuchsbedingungen lieferte das Lacton ein Salz von der folgenden Zusammensetzung:

0,1030 g Substanz gaben 0,1282 g CO_2, 0,0484 g H_2O und 0,0138 g CaO.

Berechnet für $(C_6H_9O_6)_2Ca + 2H_2O$	Gefunden
C = 33,49%	33,94%
H = 5,12%	5,26%
Ca = 9,30%	9,56%

Die spezifische Drehung der Substanz betrug:

$$[\alpha]_D^{20} = + \frac{0{,}71 \cdot 100}{1 \cdot 2} = + 35{,}5°.$$

b) 2,5-Anhydro-talonsäure und 2,5-Anhydro-galaktonsäure, dargestellt in Form ihrer Brucinsalze.

2,5-Anhydro-talonsäure wurde aus Chondrosamin und Epichondrosaminsäure erhalten. Das Brucinsalz wurde in größeren Mengen aus dem natürlich vorkommenden Zucker und aus einem aus Lyxohexosaminsäure gewonnenen Präparat dargestellt. 30 g von Chondrosaminchlorhydrat wurden in 150 ccm Wasser gelöst und mit einer Lösung von 30 g Silbernitrit unter Zugabe weniger Tropfen Salzsäure versetzt. Nach 6stündigem Stehen wurde das Silberchlorid durch Filtration

entfernt, das Filtrat 5 Minuten lang ins kochende Wasserbad gestellt, dann mit einem geringen Überschuß von Salzsäure behandelt und wiederum filtriert. Zu dem Filtrat gab man dann 65 g Brom und ließ die Mischung 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Der geringe Bromüberschuß wurde durch Schütteln mit Quecksilber entfernt und die Bromwasserstoffsäure mit Hilfe von Blei- oder Silbercarbonat entfernt. Die schließlich noch vorhandene salpetrige Säure wurde mit Hilfe der Aluminiumamalgammethode zerstört. Die so erhaltene Lösung wurde in der gewöhnlichen Art in das Brucinsalz übergeführt. Beim Erkalten schied die auf ein kleines Volumen eingeengte Lösung das Brucinsalz in krystallisierter Form aus. Das anfangs erhaltene Produkt war leicht in Methylalkohol löslich. Bei wiederholtem Umkrystallisieren geht jedoch die Löslichkeit zurück, so daß sich die Substanz zum Schluß nur in großen Mengen kochenden Methylalkohols löste. Das Salz krystallisiert dann in großen polygonalen Prismen aus, die bei 218° schmelzen und deren spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}63 \cdot 10}{2 \cdot 2{,}522} = -12{,}4°$ betrug.

0,1063 g Substanz verlieren beim Trocknen unter vermindertem Druck bei der Temperatur des Xyloldampfes 0,003 g Wasser,

Berechnet für $C_{29}H_{36}N_2O_{10} + H_2O$	Gefunden
$H_2O = 3{,}11\%$	3,58%

0,1025 g der getrockneten Substanz gaben 0,2284 g CO_2 und 0,0569 g H_2O.

Berechnet für $C_{29}H_{36}N_2O_{10}$	Gefunden
$C = 60{,}80\%$	60,78%
$H = 6{,}10\%$	6,15%

Aus der synthetisch gewonnenen Epichondrosaminsäure wurde die Substanz in der folgenden Weise bereitet:

Eine Lösung von 30 g der Säure in 200 ccm Wasser und 40 ccm 10proz. Salzsäure werden mit 40 g Silbernitrit und nach Stehen über Nacht nochmals mit 10 g Silbernitrit und 10 ccm 10proz. Salzsäure versetzt. 30 Stunden nach Beginn des Versuches wird das Chlorsilber durch Filtration entfernt und der Silberüberschuß durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die salpetrige und Salpetersäure werden nach der Aluminiumamalgammethode zerstört. Die so gewonnene Substanz liefert bei der Analyse folgende Werte:

0,1012 g Substanz verlieren beim Trocknen im Xyloldampf unter vermindertem Druck 0,0038 g H_2O.

0,0974 g getrockneter Substanz geben 0,2158 g CO_2 und 0,0562 g H_2O.

Berechnet für $C_{29}H_{36}N_2O_{10}.H_2O$	Gefunden
$H_2O = 3{,}11\%$	3,75%
Berechnet für $C_{29}H_{36}N_2O_{10}$	**Gefunden**
$C = 60{,}80\%$	60,42%
$H = 6{,}10\%$	6,45%

Die Substanz schmilzt bei 218° und hat die spezifische Drehung

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}655 \cdot 10}{2 \cdot 2{,}66} = -12{,}3°.$$

Um ihre Identität mit der 2,5-Anhydrotalonsäure zu beweisen, wurde sie mit Salpetersäure zur 2,5-Anhydrotaloschleimsäure oxydiert. 21 g des Brucinsalzes wurde durch Behandeln mit Bariumhydroxyd und Chloroform vom Alkaloid befreit. Die nach der Entfernung des Bariums auf 40 ccm konzentrierte Lösung wird mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salpetersäure zersetzt, über freier Flamme erwärmt, bis eine lebhafte Entwicklung roter Dämpfe einsetzt, und auf einem großen Uhrglas zur Trockenheit eingedampft. Der Rückstand wurde zu wiederholten Malen mit Wasser aufgenommen und wieder eingedampft Das Reaktionsprodukt wurde dann in das Kalksalz übergeführt, das 2 mal umkrystallisiert wurde. Jedesmal wurde dann das Calciumsalz durch etwas weniger als der berechneten Menge Oxalsäure zersetzt und die freie Säure wiederum in das Calciumsalz übergeführt.

0,1008 g lufttrockner Substanz verlieren beim Trocknen im Xylolbad unter vermindertem Druck 0,0130 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_8Ca + 3\,H_2O$	Gefunden
$H_2O = 12{,}68\%$	12,9%

0,0878 g trockner Substanz gaben 0,936 g CO_2 und 0,0274 g H_2O.
0,0896 g der Substanz gaben 0,0206 g CaO.

Berechnet für $C_6H_8O_7Ca + H_2O$	Gefunden
$C = 29{,}03\%$	29,07%
$H = 3{,}22\%$	3,49%
$Ca = 22{,}58\%$	22,99%

Die spezifische Drehung der Substanz in 10 proz. Salzsäure betrug:

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}30 \cdot 2{,}50}{1 \cdot 0{,}100} = -7{,}5°.$$

Die so aus Lyxohexosamin erhaltene Anhydro-hexonsäure liefert also bei weiterer Oxydation eine optische aktive Anhydro-tetraoxy-adipinsäure und besitzt daher die Struktur einer Anhydro-talonsäure.

2,5-Anhydro-galaktonsäure[28]) wurde aus Chondrosaminsäure dargestellt. 10 g Chondrosaminsäure wurden wie Epichondrosaminsäure in dem oben beschriebenen Versuch behandelt. Das auf diese Weise gewonnene Brucinsalz schmolz bei 244° und besaß die spezifische Drehung

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}47 \cdot 10{,}0}{2 \cdot 2{,}508} = -9{,}37°.$$

0,0988 g der im Xylolbad getrockneten Substanz gaben 0,2196 g CO_2 und 0,0576 g H_2O.

Berechnet für $C_{29}H_{26}N_2O_{10}$	Gefunden
$C = 60{,}80\%$	60,73%
$H = 6{,}10\%$	6,53%.

10,0 g Brucinsalz werden wie im vorigen Versuch vom Brucin befreit und die alkaloidfreie Lösung auf 25 ccm eingedampft, mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salpetersäure versetzt, dann über freier Flamme gekocht, bis das Volumen auf ca. 20 ccm vermindert war, nochmals 10 ccm Salpetersäure zugefügt und wieder über freier Flamme gekocht. Die auf 20 ccm eingeengte Lösung wird auf einem Uhrglas auf dem Wasserbade zur Trockene gebracht. Die Substanz krystallisiert sofort. Sie wird durch Auflösen in Wasser und Verdampfen desselben mehrere Male gereinigt und zum Schluß in heißem Aceton gelöst und mit wenig Äther versetzt, wobei ein geringer amorpher Niederschlag ausfällt. Dieser wird abfiltriert. Die aus dem Filtrat erhaltenen Krystalle werden nochmals aus heißem Aceton umgelöst und zeigten dann einen Schmelzpunkt von 205°.

0,1600 g der in 2,5 ccm gelösten Substanz zeigten keine optische Aktivität.

5. 2,5-Anhydro-tetraoxy-adipinsäuren.

a) 2,5-Anhydro-zuckersäure[30]).

Kaliumsalz der Säure. 10 g Chitosaminsäure wurden nach den Angaben von Fischer und Tiemann[31]) mit Silbernitrit desaminiert, die erhaltene Lösung auf 25 ccm eingeengt und mit dem gleichen Volumen Salpetersäure in der Kälte versetzt. Die Oxydation wurde unter denselben Bedingungen ausgeführt wie schon bei der Chondrosaminsäure beschrieben. Das in 10 ccm H_2O gelöste sirupöse Produkt neutralisierte man mit starker Kalilauge und fügte dann eine gleiche Menge Eisessig hinzu. Die Lösung wurde dann mit Alkohol auf 50 ccm aufgefüllt, wobei das Kaliumsalz der 2-basischen Säure alsbald zu krystallisieren anfing. Nach halbstündigem Stehen im Eisschrank wurde es filtriert. Die Ausbeute betrug ungefähr 4 g. Zur Analyse wurde die Substanz aus 2 Teilen heißen Wassers umkrystallisiert. Das Produkt enthält $^1/_2$ Mol Krystallwasser, welches durch Erwärmen auf 115° im Vakuum entfernt werden kann.

0,1868 g Substanz gaben 0,0058 g H_2O.
0,1811 g getrockneter Substanz gaben 0,0511 g H_2CO_3.

Berechnet für $C_6H_9O_8K + 0{,}5\ H_2O$	Gefunden
$H_2O = 3{,}7\%$	3,10%
Berechnet für $C_6H_9O_8K$	Gefunden
$K = 15{,}73\%$	15,94%

Bleisalz. 2,5 g des Kaliumsalzes werden in ungefähr 100 ccm Wasser gelöst und mit einem Überschuß von neutraler Bleiacetatlösung langsam in der Kälte versetzt. Die Krystallisation beginnt nach wenigen Minuten und ist nach einer halben Stunde vollständig. Das Bleisalz bildet unter diesen Bedingungen große, fast quadratische Platten, welche sich nur schwierig im Wasser lösen. Die Ausbeute ist nahezu

quantitativ. Das Salz enthält 2 Mol Krystallwasser, welche durch Erhitzen im Vakuum auf 150° entfernt werden können. Das getrocknete Präparat erwies sich bei der Analyse als das neutrale Bleisalz einer Anhydrohexonsäure.

0.2418 g Substanz ergaben 0.0204 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7Pb + 2\,H_2O$	Berechnet für $C_6H_6O_7Pb + 2\,H_2O$	Gefunden
H_2O 7.99%	8.32%	8.40%

0.2214 g getrockneter Substanz gaben 0.1690 g $PbSO_4$.

Berechnet für $C_6H_8O_8Pb$	berechnet für $C_6H_6O_7Pb$	Gefunden
Pb 49.88%	52.18%	52.10%

Darstellung der freien Säure. 7.8 g des Bleisalzes werden in 150 ccm Wasser suspendiert und mit etwas weniger als der berechneten Menge Schwefelsäure versetzt. Man erwärmt etwa eine Stunde auf dem Wasserbade und verdünnt dann mit dem gleichen Volumen Alkohol, filtriert und konzentriert das Filtrat im Vakuum zur Sirupdicke. Der Rückstand wird in Aceton gelöst, filtriert und auf dem Wasserbad eingedampft. Der so erhaltene Sirup krystallisiert im Exsiccator zu einem halbfesten Kuchen. Das Rohprodukt wurde mit einer kleinen Menge einer Mischung von einem Teil Amylalkohol und 2 Teilen Äther extrahiert, filtriert und mit derselben Mischung schließlich mit trocknem Äther gewaschen. Es kann durch Lösen in einer geringen Menge Aceton und darauffolgendes Verdunsten des Lösungsmittels umkrystallisiert werden. Es krystallisiert in großen Platten, deren Ecken gewöhnlich durch den zum Waschen gebrauchten Äther etwas abgerundet sind. Die Säure ist sehr löslich in den gebräuchlichen Lösungsmitteln, mit Ausnahme von kaltem Amylalkohol und Äther. Die Ausbeute beträgt etwa 2 g an reiner Substanz.

Das Produkt enthält 1 Mol. Krystallwasser, welches durch Erhitzen auf 78° im Vakuum entfernt werden kann. Die getrocknete Substanz schmilzt bei 160° (unkorrigiert).

0.1278 g der Substanz ergaben 0.0107 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7 + H_2O$	Gefunden
H_2O 8.57%	8.38%

0.1159 g Substanz ergaben 0.1598 g CO_2 und 0.0467 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7$	Gefunden
C 37.50%	37.57%
H 4.28%	4.47%.

0.0898 g der Krystallwasser enthaltenden Substanz erfordern zur Neutralisation 8.6 ccm 0.1 n-NaOH (berechnet 8.4 ccm). Die spezifische Drehung im Wasser betrug

$$[\alpha]_D^{20} = + \frac{3.12 \cdot 2.1478}{1.033 \cdot 0.1637} = + 39.66^\circ.$$

2,5-Anhydro-zuckersäure sollte auch bei der Oxydation von Epichitosamin gebildet werden. An seiner Stelle entsteht jedoch die Zuckersäure selbst.

b) 2,5-Anhydro-mannozuckersäure[30]).

Diese Säure ist früher von Tiemann durch Oxydation von Chitosamin erhalten worden. Angesichts der Tatsache, daß Epichitosaminsäure und ihr Lacton bei der Desaminierung Chitonsäuren liefern, sollte sie bei der Oxydation in 2,5-Anhydro-mannonsäure übergehen. In diesem Beispiel entstand aus der Säure und ihrem Lacton dieselbe Anhydrosäure. Möglicherweise fand in beiden Fällen die Waldensche Umkehrung statt.

c) 2,5-Anhydro-l-zuckersäure[24]).

Diese Säure wird bei der Oxydation von Dextro-d-xylohexosaminsäurelacton und der Lävo-d-xylohexosaminsäure gebildet, woraus hervorgeht, daß in einem der beiden Fälle die Waldensche Umkehrung stattgefunden hat, und zwar wahrscheinlich dann, wenn man von der Säure ausgeht. Eine Lösung von 3,5 g des salzsauren Lactons der Xylohexosaminsäure in 50 ccm Wasser werden mit 4 g Silbernitrit desaminiert und anfangs 5 Stunden bei 0°, dann über Nacht bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Wenn noch Silber in der Lösung vorhanden ist, wird es mit wenigen Tropfen Salzsäure gefällt und die Lösung nach Entfernung des Chlorsilbers im Vakuum auf 15 ccm eingedampft. Man kocht dann mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salpetersäure etwa 12 Minuten über kleiner Flamme, dampft in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad bis zur Sirupdicke ein und entfernt den größten Teil der Salpetersäure durch wiederholtes Eindampfen mit Wasser. Das Reaktionsprodukt wird darauf in ungefähr 6 ccm Wasser gelöst, mit starker Kalilauge versetzt und nach 15 Minuten mit dem gleichen Volumen Eisessig und ungefähr 3 Volumen absoluten Alkohols versetzt. Nachdem die Lösung etwa 5 Stunden im Eisschrank gestanden hat, ist die Krystallisation des Kaliumsalzes vollständig geworden. Die Ausbeute beträgt 1,6 g. Das Salz wird aus 2 Teilen heißen Wassers umkrystallisiert.

0,2314 g Substanz gaben 0,0797 g K_2SO_4.

Berechnet für $C_6H_7O_7K + H_2O$	Gefunden
K = 15,70%	15,45%

Die spezifische Drehung der lufttrockenen Substanz betrug:

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{2{,}54 \cdot 2{,}1114}{1 \cdot 0{,}1400} = -38{,}09°.$$

4 g des Kaliumsalzes werden in ungefähr 150 ccm Wasser gelöst und mit der berechneten Menge einer 5 proz. Bleiacetatlösung versetzt. Die Krystallisation des Bleisalzes begann sofort und war nach etwa einer Stunde beendet. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und bei 100° getrocknet. Die Ausbeute betrug 6 g. Man suspendierte es in etwa 100 ccm Wasser und fügte etwas weniger als die berechnete

Menge Schwefelsäure hinzu. Man ließ die Mischung etwa eine Stunde auf dem Wasserbade stehen, filtrierte das gebildete Bleisulfat ab, dampfte das Filtrat bis zur Sirupdicke im Vakuum ein, löste den Rückstand in trockenem Aceton und verdampfte wieder zur Trockene. Der sirupöse Rückstand, welcher noch Bleisalz enthielt, wurde abermals mit trockenem Aceton behandelt und das farblose Filtrat in einer Schale auf dem Wasserbade zu einem dicken Sirup eingedampft. Wenn man diese Behandlung mit Aceton einige Male wiederholt, krystallisiert der Sirup in der Kälte ohne Krystallwasser. Geringe Mengen anhängenden Sirups werden durch Waschen mit einer Mischung von einem Teil Amylalkohol und 2 Teilen trockenen Äthers entfernt. Die Ausbeute beträgt dann 1,5 g. Die Substanz kann durch Lösen in einer geringen Menge trockenen Acetons und allmähliches Verdunsten des Lösungsmittels an der Luft umkrystallisiert werden. Sie schmilzt bei 163°.

0,1092 g Substanz gaben 0,1514 g CO_2 und 0,0410 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7$	Gefunden
C = 37,50%	37,80%
H = 4,20%	4,20%

Die spezifische Drehung der Substanz betrug

$$[\alpha]_D^{20} = -\frac{3{,}08 \cdot 2{,}1547}{1{,}034 \cdot 0{,}1657} = -38{,}79°.$$

Desaminierung der d-Laevo-xylohexosaminsäure[30]).

7 g der Säure wurden in der oben beschriebenen Weise desaminiert und das Reaktionsprodukt durch Destillation unter vermindertem Druck auf ein Volumen von 30 ccm gebracht, zu dem man eine gleiche Menge Salpetersäure hinzufügte. Die Lösung wurde dann über freier Flamme bis zur Entwicklung brauner Dämpfe erhitzt, dann 7 Minuten lang auf dem Wasserbade schwach erwärmt, auf ein Uhrglas gegossen und vollständig zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde wiederum in 5 ccm Salpetersäure und 5 ccm Wasser gelöst. Das Endprodukt wurde in der von Levene und La Forge beschriebenen Weise in das Kaliumsalz der Säure übergeführt, welches in einer Ausbeute von 3,05 g (Rohprodukt) erhalten wurde. Das 3 mal umkrystallisierte Salz hat folgende Zusammensetzung:

0,1000 g Substanz gaben 0,0366 K_2SO_4.

Berechnet für $C_6H_7O_7K + H_2O$	Gefunden
K = 15,70%	16,03%

Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}75 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -37{,}5°$.

Die Tatsache, daß diese Säure den Antipoden der aus Chitosaminsäure erhaltenen Substanz darstellt, beweist, daß die Konfiguration der entsprechenden Säuren mit der der Anhydrogulonsäure bzw. der Anhydro-

gluconsäure identisch ist, und daß daher ihren Epimeren die Konfiguration der Anhydro-mannonsäure bzw. Anhydro-idonsäure zukommt.

d) 2,5-Anhydro-ido-zuckersäure.[32])

Diese Säure wurde durch Oxydation der Dextro-d-xylohexosaminsäure erhalten. Eine Lösung von 10 g reiner d-Dextro-xylohexosaminsäure in 100 ccm 3 proz. Salzsäure werden mit 10 g Silbernitrat versetzt. Im Laufe von 24 Stunden gibt man noch 2 weitere Portionen von je 2 g Silbernitrat und 4 ccm 10 proz. Salzsäure hinzu. Der Überschuß an Salzsäure wird quantitativ mittels Silbernitrat entfernt, und das auf 20 ccm eingeengte Filtrat mit dem gleichen Volumen Salpetersäure 12 Minuten lang gekocht. Läßt man die Lösung auf einem Uhrglase verdampfen, so krystallisiert die Substanz sofort. Sie wird mit sehr wenig Wasser aufgenommen und mit mehreren Volumen Aceton versetzt, wobei sie allmählich wieder auskrystallisiert. Die Ausbeute betrug 4,8 g.

0,1128 g Substanz nahmen auf der Wage um 0,0186 g ab.

Berechnet für $C_6H_8O_7 + 2\,H_2O$	Gefunden
$H_2O = 15{,}80\%$	16,49%

0,0942 g trockene Substanz gaben 0,1282 g CO_2 und 0,0362 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7$	Gefunden
C = 37,50%	37,11%
H = 4,20%	4,30%

Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = -\frac{1{,}56 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -78{,}0°$, oder auf die trockene Substanz umgerechnet $-93{,}40°$.

Dieselbe Substanz wurde von Levene und La Forge durch Oxydation eines Gemisches der Xylohexosaminsäuren gewonnen.

e) 2,5-Anhydro-schleimsäure.

Diese Säure wurde ursprünglich aus natürlicher Chitosaminsäure von Levene und La Forge und später aus der synthetischen Laevo-d-lyxohexosaminsäure dargestellt. In eine Lösung von 9 g Lyxohexosaminsäure in 100 ccm 3 proz. Salzsäure trägt man in kleinen Portionen innerhalb 4 Stunden 15 g Silbernitrit ein, fügt schließlich noch wenige ccm 10 proz. Salzsäure hinzu und läßt die Reaktion über Nacht bei Zimmertemperatur zum Abschluß kommen. Das Chlorsilber wird abfiltriert und der geringe Überschuß von Salzsäure mit Silbernitrat entfernt. Die im Vakuum auf ungefähr 25 ccm eingeengte klare Lösung wird mit 30 ccm konzentrierter Salpetersäure in einem Erlenmeyerkölbchen über kleiner Flamme erwärmt, bis eine heftige Entwicklung von roten Dämpfen beginnt. Dann läßt man die Reaktion von selbst unter zeitweiligem Erwärmen vor sich gehen. Nach 12 Minuten gießt man die Lösung in 2 Glasschalen und dampft auf dem Wasserbade

bis zur Sirupdicke ein. Der Inhalt der Schalen wird mit wenig Wasser verdünnt, zusammengegossen und wiederum eingedampft. Diese Operation wird nochmals wiederholt. Der Sirup erstarrt dann beim Abkühlen zu einer Masse weißer Krystalle, welche unter dem Mikroskop als weiße längliche Platten erscheinen. Nachdem das Produkt eine Zeitlang im Eisschrank gestanden hat, wird es mit wenigen ccm einer Mischung trockenen Acetons und Äthers behandelt und auf einem Büchner-Trichter filtriert. Man wiederholt diese Behandlung noch einmal, um den anhängenden Sirup zu beseitigen. Das Rohrprodukt wog nach dem Trocknen ungefähr 2 g, obgleich aus der Aceton-Äthermischung, die zum Trocknen verwendet wurde, mehr auskrystallisiert war. Zur Analyse wird es nochmals in 100 Teile kochenden, wasserfreien Acetons gelöst und nach der Filtration durch Eindampfen der Lösung auf den 8. Teil ihres Volumens in krystallisierter Form abgeschieden. Die Anhydro-schleimsäure krystallisiert aus Aceton ohne Krystallwasser in langen Prismen vom Schmelzpunkt 203—204° (korrigiert).

0.1040 g Substanz erfordern zur Neutralisation 10.7 ccm, 0.1 n-Kalilauge. Berechnet 10.8 ccm.

0.1563 g Substanz in 3 ccm Wasser zeigte keine Drehung in einem 1 dem-Rohr bei Verwendung von Natriumlicht, wobei eine Drehung von 0.02° der Beobachtung nicht hätte entgehen können.

0.1424 g Substanz gaben 0.1945 g CO_2 und 0.0534 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7$	Gefunden
C = 37.5 %	37.27 %
H = 4.20 %	4.17 %

f) 2.5-Anhydro-d-taloschleimsäure.

Diese Säure ist zuerst von Levene und La Forge durch Oxydation von natürlichem Chondrosamin erhalten worden. Später wurde sie aus synthetischem Chondrosamin, aus synthetischer Dextro-d-lyxohexosaminsäure[30]) (Epichondrosaminsäure) und aus Dextro-d-ribohexosaminsäure[25]) gewonnen.

Darstellung aus synthetischem Zucker. Zu einer Lösung von 6 g des synthetisch gewonnenen salzsauren Chondrosamins in 30 ccm 1proz. Salzsäure fügt man 8 g Silbernitrat hinzu und filtriert nach 6stündigem Stehen. Das noch im Filtrat zurückgebliebene Silber wird mit Schwefelwasserstoff entfernt, das klare Filtrat vom Silbersulfidniederschlag auf 20 ccm eingeengt, auf 0° abgekühlt und mit 20 ccm salpetriger Säure von 0° versetzt. Man läßt die Lösung über Nacht stehen, kocht dann über freier Flamme, bis eine lebhafte Entwicklung gelber Dämpfe einsetzt und verdampft dann auf einem Uhrglas auf dem Wasserbad. Aus dem Rückstand wird das Kalksalz in der üblichen Weise dargestellt und durch zweimaliges Umfällen gereinigt.

0,1054 g Substanz verlieren beim Trocknen im Xylolbad 0,013 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_8Ca + 2\,H_2O$	Gefunden
$H_2O = 12{,}68\%$	12,33%

0,0924 g der trocknen Substanz gaben 0,0982 g CO_2, 0,0298 g H_2O und 0,0924 g CaO.

Berechnet für $C_6H_6O_7Ca + H_2O$	Gefunden
$C = 29{,}03\%$	28,98%
$H = 3{,}22\%$	3,60%
$Ca = 22{,}58\%$	23,05%.

Die spezifische Drehung in 10proz. Salzsäure betrug

im Anfang: $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}32 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}100} = -8{,}0°$.

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}32 \cdot 2{,}5}{1 \cdot 0{,}100} = -8{,}0°$.

Die Substanz ist also 2,5-Anhydro-taloschleimsäure; sie ist identisch mit dem früher aus natürlichem Chondrosamin gewonnenen Präparat.

Darstellung aus Dextro-d-lyxohexosaminsäure. Die durch Desaminierung von 6 g Aminosäure erhaltene Lösung wird auf 35 ccm eingeengt und mit einem gleichen Volumen konzentrierter Salpetersäure versetzt. Man erwärmt die Lösung über freier Flamme bis zur Entwicklung roter Dämpfe und setzt die Erwärmung noch 7 Minuten lang fort. Das Reaktionsprodukt wird dann schnell unter beständigem Rühren auf einem Uhrglase auf dem Wasserbade eingedampft. Der Rückstand wird mit 5 ccm Wasser und 5 ccm Salpetersäure aufgenommen und abermals eingedampft. Das so erhaltene Produkt wird noch 2 mal mit Wasser abgeblasen, um die anhaftende Salpetersäure zu entfernen und schließlich in wässeriger Lösung in das Calciumsalz übergeführt. Die Ausbeute an rohem Kalksalz betrug 3,5 g. Das Rohprodukt wurde durch Fällung des Kalkes mittels Oxalsäure und darauffolgende Überführung der freien Säure in das Kalksalz gereinigt.

0,0988 g Substanz gaben 0,1042 g CO_2, 0,0302 g H_2O und 0,0222 g CaO.

Berechnet für $C_6H_8O_8Ca$	Gefunden
$C = 29{,}03\%$	28,76%
$H = 3{,}22\%$	3,44%
$CaO = 22{,}58\%$	22,47%

Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}45 \cdot 100}{1 \cdot 5} = -9{,}0°$.

Chondrosaminsäure liefert unter denselben Bedingungen die inaktive Anhydro-schleimsäure.

2,5-Anhydro-taloschleimsäure aus Dextro-d-ribohexosaminsäure. 5,0 g der Substanz werden in derselben Weise wie die linksdrehende Form desaminiert. Zur Oxydation wird die Lösung auf ein Volumen von 6 ccm gebracht und mit dem gleichen Volumen Salpetersäure vermischt. Man erhitzt diese Lösung 13 Minuten lang über freier Flamme und dampft das Reaktionsprodukt schnell auf einem

Uhrglase ein. Der Rückstand wird nochmals mit gleichen Teilen Wasser und Salpetersäure oxydiert und einmal mit Wasser zur Entfernung der Salpetersäure abgedampft. Den Rückstand verwandelt man in das Calciumsalz, das in einer Ausbeute von 2,8 g entsteht. Zur Reinigung wird es mittels Oxalsäure in die freie Säure übergeführt und diese wieder ins Calciumsalz umgewandelt. Das reine Salz krystallisiert teils in flachen, teils in prismatischen Nadeln. Unter vermindertem Druck bei Xyloldampftemperatur erhitzt, verliert es 2 Moleküle Wasser.

0,1216 g Substanz verlieren beim Trocknen 0,0160 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_8Ca + 2\,H_2O$	Gefunden
$H_2O = 12{,}68\%$	13,16%

0,1056 g Substanz gaben 0,1120 g CO_2, 0,0302 g H_2O und 0,0242 g CaO.

Berechnet für $C_6H_6O_7Ca + H_2O$	Gefunden
$C = 29{,}03\%$	28,98%
$H = 3{,}22\%$	3,20%
$CaO = 22{,}58\%$	22,92%

Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}18 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -9{,}0°$.

Darstellung der freien Säure. Man trägt 6,8 g des aus natürlichem Zucker gewonnenen Kalksalzes portionsweise in eine Lösung von 3,2 g Oxalsäure in 250 ccm kochenden Wassers ein. Nach halbstündigem Kochen behandelt man die Lösung mit wenig Tierkohle, dampft das Filtrat zum Sirup ein, der in etwa 30 ccm Aceton gelöst wird. Die filtrierte Lösung wird auf dem Wasserbad wieder zum Sirup eingedickt, der beim Stehen über Nacht lange farblose Prismen ausscheidet. Zur Vervollständigung der Krystallisation wird der an haftende Sirup mit wenigen ccm einer Mischung gleicher Teile Aceton und Äther gelöst, die Krystalle abgesaugt, mit einer geringen Menge der Aceton-Äthermischung gewaschen. Sie bestehen aus großen Parallelepipida, die bei 179—181° (unkorrigiert) schmelzen und sich bei dieser Temperatur langsam unter Gasentwicklung zersetzen. Die reine Substanz ist ziemlich schwierig löslich in Aceton (ungefähr 1 Teil in 40 Teilen des kochenden Lösungsmittels). Zur Analyse wurde es in Aceton gelöst, das man teilweise verdunsten ließ. Der Schmelzpunkt des umkrystallisierten Produktes unterschied sich nicht von dem des ursprünglichen. Die Substanz ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, aber nahezu unlöslich in Äther. Die Ausbeute betrug 2,2 g.

0,1094 g Substanz gaben 0,1484 g CO_2 und 0,0404 g H_2O.

Berechnet für $C_6H_8O_7$	Gefunden
$C = 37{,}50\%$	37,11%
$H = 4{,}20\%$	4,15%.

0,1500 g Substanz erfordern zur Neutralisation 15,9 ccm 0,1 n-NaOH (berechnet 15,6 ccm).

0,2004 g Substanz in 3 ccm H_2O (Gewicht der Lösung 3,1835 g spezifisches Gewicht 1,0262 g) drehten im 1 dcm-Rohr (bei Verwendung von Natriumlicht) und bei 28° 1,07° nach links, ohne diesen Wert nach 5 Stunden zu verändern. $[\alpha]_D^{28} = -16{,}55°$.

g) 2,5-Anhydro-alloschleimsäure.

Diese Säure wurde aus Laevo-d-ribohexosaminsäure dargestellt. 2 Portionen zu je 5 g der Aminosäure werden in je 35 ccm Wasser gelöst, zu dieser Lösung fügt man 15 ccm 10 proz. Salzsäure und je 5 g Silbernitrit und überläßt sie während der Nacht sich selbst. Während der Reaktion fügt man noch 2 Portionen von je 2 g Nitrit und 2 ccm Salzsäure hinzu. Das Reduktionsprodukt wurde vom Silberüberschuß befreit und das Filtrat durch Destillation unter vermindertem Druck bei 40—50° Wasserbadtemperatur auf 75 ccm eingeengt. Zu dieser Lösung setzt man 50 ccm Salpetersäure zu und erhitzt 20 Minuten über der Flamme. Der beim raschen Eindampfen hinterbleibende, dickflüssige Rückstand wird mit 10 ccm einer Lösung aus gleichen Teilen Wasser und konzentrierter Salpetersäure aufgenommen, eingedampft und nochmals mit Wasser abgeblasen, um die Salpetersäure zu entfernen. Das so erhaltene Produkt wird in das Calciumsalz der 2,5-Anhydro-alloschleimsäure übergeführt, das zur Analyse in Wasser suspendiert und mit einem geringen Überschuß von Oxalsäure zur Entfernung des Calciums gekocht wird. Das Calciumsalz der 2,5-Anhydro-alloschleimsäure unterscheidet sich von dem der 2,5-Anhydro-taloschleimsäure 1. durch seine optische Inaktivität und 2. durch sein Verhalten beim Erwärmen. Beide Salze krystallisieren mit 3 Molekül Krystallwasser. Erhitzt man sie unter vermindertem Druck auf die Temperatur des Xyloldampfes, so verliert das Salz der Anhydro-alloschleimsäure alle 3 Moleküle Krystallwasser, während das Salz der Anhydro-taloschleimsäure nur 2 verliert und das dritte zurückhält.

0,1228 g des Salzes verlieren beim Trocknen 0,0244 g an Gewicht.

Berechnet für $C_6H_6O_7Ca\ 3\ H_2O$	Gefunden
$H_2O = 19{,}02\%$	19,87%.

0,0984 g Substanz gaben 0,11 g CO_2 und 0,0270 g H_2O und 0,0984 g CaO.

Berechnet für $C_6H_6O_7Ca$	Gefunden
$C = 31{,}30\%$	30,09%
$H = 2{,}61\%$	3,07%
$CaO = 24{,}35\%$	25,00%

6. Chitose und Epichitose.

Chitose wurde zum erstenmal von Ledderhose[34]) und Tiemann[35]) erhalten. Fischer und Andreae[36]) haben sie als eine 2,5-Anhydrohexose erkannt. In Anbetracht der Tatsache, daß die durch weitere Oxydation in 2,5-Anhydro-mannozuckersäure übergeht, kommt ihr augenscheinlich die Struktur der Anhydro-mannose zu. Da Epichitose

das Epimere der Chitose ist, muß sie also die Konfiguration einer 2,5-Anhydro-glucose haben. Die Substanz wurde in der folgenden Weise dargestellt:

Epichitose[21]). Eine Lösung von 15 g aschefreien Epichitosaminchlorhydrats in 250 ccm Wasser werden mit 80 g Quecksilberoxyd 30 Minuten auf dem Wasserbad erwärmt, wobei der größte Teil des Oxyds sich in ein graues Pulver verwandelt. Das vom Quecksilberoxyd befreite Filtrat wird mit Schwefelwasserstoff behandelt und nach Abtrennung des Sulfids zu einem Sirup eingedickt. Dieser scheidet in wenig Methylalkohol gelöst beim Stehen über Nacht einen krystallinischen Niederschlag ab. Er war stickstoffrei, reduzierte Fehlingsche Lösung in der Wärme und schmolz bei 240° (korrigiert) unter Zersetzung.

0,1031 g Substanz gaben 0,1670 g CO_2 und 0,0570 g H_2O.

Berechnet	Gefunden
C = 44,44%	44,18%
H = 6,17%	6,18%

Die spezifische Drehung betrug:

im Anfang $[\alpha]_D^{25} = -\frac{1{,}92 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -96°$;

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{25} = -\frac{1{,}92 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -96°$.

7. 3-Amino-heptonsäuren.

3-Amino-heptonsäuren waren in Form ihrer amorphen Kupfersalze von Neuberg[37]) und Neuberg und Wolf[38]) dargestellt; sie waren jedoch noch nicht ganz rein.

a) Chitosamino-heptonsäuren[39], [40]).

Darstellung der Chitosamino-heptonsäuren. Die Bedingungen zur Darstellung dieser Säuren sind unsicherer als die irgendeiner anderen Substanz dieser Gruppe. Einmal im Jahre 1915 wurden gute Ausbeuten an krystallinischer Substanz in der folgenden Weise gewonnen: Eine Lösung von 50 g Chitosaminchlorhydrat in 100 ccm Wasser wurde mit 18 ccm einer 80proz. wässerigen Blausäurelösung und 25 ccm Ammoniak versetzt. Nachdem die Lösung 24 oder 48 Stunden gestanden hatte, wurde das Produkt in eine wässerige Aufschwemmung von 150 g Bariumhydroxyd gegossen und über freier Flamme gekocht, solange noch Ammoniak entwich (ungefähr 48 Stunden). Das Barium und die Salzsäure wurden in der üblichen Weise entfernt und die resultierende Lösung unter vermindertem Druck zu einem dicken Sirup eingeengt. Dieser wurde in wenig Wasser gelöst und fiel auf Zusatz von heißem 95proz. Alkohol wieder als ein gummiartiger Niederschlag aus, den man nach Abgießen der überstehenden Flüssigkeit bei 0° über Nacht stehen ließ. Am nächsten Morgen hatte sich ein krystallinischer Boden-

satz gebildet. Aus der Mutterlauge konnte durch Konzentration und wiederholte Behandlung mit Alkohol usw. in der Regel ein zweiter Anschuß von Krystallen erhalten werden. Die Gesamtausbeute betrug etwa 30% des angewendeten Chitosamins. Das Material drehte schwach nach links.

Im Jahre 1916 wurden die Laboratorien in ein neues Gebäude verlegt und nunmehr blieben alle Versuche, die Substanz durch dasselbe Verfahren wieder zu erhalten, ohne Erfolg. Nach vielen Versuchen gelang es schließlich unter folgenden Bedingungen zum Ziele zu kommen: Eine Lösung von 35 g Chitosaminchlorhydrat in 100 ccm Wasser gelöst, wurde mit 35 g wässeriger 80 proz. Blausäure und 20 ccm Ammoniak versetzt. Die Lösung wurde dann auf 30° erwärmt und blieb eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Die Temperatur blieb in der Regel auf dieser Höhe, wobei der Zucker im Laufe der angegebenen Zeit vollständig in Lösung gegangen war. Man gießt dann in eine wässerige Lösung von Bariumhydroxyd und setzt in der oben beschriebenen Weise die Aufarbeitung fort. Die zum Schluß erhaltene Lösung wurde auf ein kleines Volumen eingeengt und mit heißem Methylalkohol bis zur schwachen Opalescenz versetzt. Die Lösung wurde dann auf dem Wasserbade erwärmt, bis sich ein krystallinischer Niederschlag zu bilden begann. Die Ausbeute wechselte und betrug im Maximum 15% des angewendeten salzsauren Chitosamins. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +4°$.

Dextro-d-chitosamin-heptonsäure. 130 g der Chitosaminhexonsäure wurden in 4 Teilen heißen Wassers gelöst. Das Ausgangsmaterial hatte in 2,5 proz. Salzsäure anfangs eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +\frac{0{,}16 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +4°$;

im Gleichgewichtszustand $[\alpha]_D^{20} = -\frac{0{,}04 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -1{,}0°$.

Da sich beim Aufbewahren der wässerigen Lösung über Nacht keine Krystalle abgeschieden hatten, wurde sie unter vermindertem Druck solange eingeengt, bis sich ein krystallinischer Niederschlag zu bilden begann. Aus dieser konzentrierten Lösung erhielt man nach Stehen über Nacht 74 g eines Krystallpulvers, das in 2,5 proz. Salzsäure die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}23 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +5{,}75°$ zeigte. Diese 74 g Heptonsäure wurden abermals in 150 ccm heißen Wassers gelöst, woraus sich 43 g der Substanz wieder abschieden, die in 2,5 proz. Salzsäure eine Drehung von $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}26 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +6{,}5°$ im Anfang und nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}11 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +2{,}75°$ besaßen. Diese wurden

abermals aus 86 ccm heißen Wassers umkrystallisiert (Ausbeute 35 g) und zeigten dann in 2,5 proz. Salzsäure die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}26 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +6{,}5°$. Die nochmals aus der doppelten Menge Wasser umkrystallisierte Substanz besaß in 2,5 proz. Salzsäure dieselbe Drehung $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}26 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +6{,}5°$.

Aus der Mutterlauge konnten noch 37 g der Substanz erhalten werden, so daß die Gesamtausbeute 65 g betrug. Die Substanz krystallisiert aus Wasser in derben Prismen, die bei 192° unter Zersetzung schmelzen.

Laevo-d-chitosamin-heptonsäure. Zu der Mutterlauge des ersten Niederschlages fügte man heißen Methylalkohol bis zur leichten Opalescenz und ließ die Lösung 4 Stunden stehen, wobei sich ein Niederschlag ausschied. Die Mutterlauge davon wurde unter vermindertem Druck eingeengt und mit heißem Alkohol versetzt, wobei sich wiederum ein Niederschlag bildete, der abfiltriert wurde, während zu der Mutterlauge weitere Mengen Alkohol hinzugefügt wurden. Sie schied dann 5 g einer krystallinischen Substanz aus, welche in 2,5 proz. Salzsäurelösung die spezische Drehung $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}16 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -4{,}0°$ zeigte. Nach dem Umkrystallisieren aus der gleichen Menge Wasser (Ausbeute 1,85 g) hatte die Substanz eine spezifische Drehung von

$$[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}13 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -6{,}5° \text{ (Nr. 309).}$$

Aus der ersten Mutterlauge krystallisierten bei längerem Stehen noch 4,75 g der Substanz, die eine spezische Drehung von

$$[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}11 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -5{,}5°$$

besaßen. Durch Umkrystallisieren aus Wasser erhöhte sich die Drehung auf

$$[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}15 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -7{,}5° \text{ (Nr. 358).}$$

Die Präparate Nr. 309 und 358 wurden zusammen nochmals aus 4 ccm heißem Wasser umkrystallisiert, wobei 1,5 g zurückgewonnen wurden, die eine Drehung von $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}15 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -7{,}5°$ im Anfang und $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}24 \cdot 100}{1 \cdot 2} = -12°$ nach 24 Stunden besaßen.

Durch weiteres Umkrystallisieren wurde die Drehung nicht mehr geändert. Die Substanz krystallisierte aus 25 proz. Alkohol in langen, prismatischen Nadeln vom Schmelzpunkt 139° (korrigiert) unter Zersetzung.

b) Chondrosamino-heptonsäure[27, 40]).

Darstellung der Chondrosamino-heptonsäure. Eine Lösung von 35 g salzsauren Chondrosamins in 70 ccm Wasser wird mit 35 ccm einer 80 proz. wässerigen Blausäurelösung und 22 ccm konzentrierten Ammoniaks versetzt. Beim Erwärmen auf 42—45° färbt sich die Lösung dunkel und wird viscös. Nach 15 Minuten wird es in einem Eis-Alkoholbad auf 0° abgekühlt und dann in eine wässerige Lösung von 200 g Bariumhydroxyd gegossen. Nach einer Stunde wird die Lösung über freier Flamme ungefähr 3 Stunden gekocht und unter vermindertem Druck eingedampft. Der in 100 ccm Wasser gelöste Rückstand wird abermals zur Trockne gebracht. Diese Behandlung wird mehrere Male wiederholt, bis das gesamte Ammoniak abgetrieben ist. Das Barium wird mit einem geringen Überschuß von Schwefelsäure entfernt, die Schwefelsäure mit Bleicarbonat abgestumpft. Die Salzsäure wird mittels Silbercarbonats entfernt, der Überschuß des Bleis und Silbers mit Schwefelwasserstoff; das Filtrat von den Sulfiden wird unter vermindertem Druck zum Sirup eingedickt und mit Chondrosamin-heptonsäure geimpft. Man setzt dann sehr vorsichtig heißen Methylakohol bis zur leichten Opalescenz hinzu und läßt die Lösung ungefähr 72 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Zuweilen krystallisiert die Substanz bereits aus der wässerigen Lösung aus. Der krystallinische Niederschlag wurde abfiltriert, mit 50 proz. Alkohol, dann mit 95 proz., weiterhin mit absolutem Alkohol und zum Schluß mit Äther gewaschen. Die beste Ausbeute betrug 11 g. Auf diese Weise wurden 443 g der Substanz hergestellt.

Laevo-d-chondrosamin-heptonsäure. Das Ausgangsmaterial hatte eine anfängliche Drehung von $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}14 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -3{,}5°$.

440 g dieser Chondrosamin-heptonsäure wurden in 800 ccm heißen Wassers gelöst, aus dem sich beim Stehen über Nacht 344 g krystallinischer Substanz ausschied, welche anfangs die Drehung

$$[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}30 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -7{,}5°,$$

nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}48 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -12{,}00°$ besaßen.

Aus diesen 344 g der Heptonsäure wurden durch Umkrystallisieren aus 800 ccm Wasser 391 g erhalten, die anfangs eine Drehung von

$$[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}33 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -8{,}25°,$$

nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}49 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -12{,}25°$ besaßen. Diese Krystalle wurden wiederum in 800 ccm heißen Wassers versetzt und

ergaben 265 g eines Präparates, das in 2,5 proz. Salzsäure dieselbe Drehung besaß. Im Anfang $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}33 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -8{,}25°$,

nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = -\frac{0{,}52 \cdot 100}{1 \cdot 4} = -13{,}00°$.

Aus der Mutterlauge schied sich noch mehr derselben Substanz aus. Die Gesamtausbeute an Laevo-chondrosamin-heptonsäure betrug 313 g. Sie krystallisiert aus Wasser in langen Prismen, die bei 139° (korrigiert) unter Zersetzung schmelzen.

Dextro-d-chondrosamin-heptonsäure. Die Mutterlauge der ersten Krystallisation wurde unter vermindertem Druck eingeengt, der dabei ausfallende Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit dem gleichen Volumen 95 proz. Alkohols versetzt. Nach 24 Stunden schied sich ein zweiter Niederschlag aus, der abfiltriert wurde. Die Lösung wurde unter beständigem Rühren in absoluten Alkohol gegossen, wobei eine gummiartige Substanz ausfällt. Man entfernt sie und dampft die Lösung unter vermindertem Druck bei Zimmertemperatur zum Sirup ein. Diesen läßt man in Alkohol mehrere Tage stehen, wobei sich Krystalle bilden, die in 2,5 proz. Salzsäure anfangs eine Drehung von $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}64 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +16{,}0°$, nach 24 Stunden eine Drehung von $[\alpha]_D^{25} = +\frac{1{,}02 \cdot 100}{1 \cdot 4} = +25{,}5°$ besaßen.

Die Ausbeute betrug 1,9 g. Aus der Mutterlauge krystallisierte noch eine zweite Portion von 2,3 g, welche in 2,5 proz. Salzsäure anfangs die Drehung $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}50 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +25{,}0°$,

nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}85 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +42{,}5°$ zeigte. Eine dritte Portion aus derselben Mutterlauge zeigte anfangs eine Drehung von

$$[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}85 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +42{,}5°,$$

nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = +\frac{1{,}43 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +71{,}50°$.

Aus der Mutterlauge von dieser Substanz wurde durch weitere Krystallisation ein Präparat erhalten, welches in 2,5 proz. Salzsäure anfangs die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{25} = +\frac{0{,}85 \cdot 100}{1 \cdot 2} = +42{,}5°$ und nach 24 Stunden $[\alpha]_D^{25} = +\frac{1{,}30 \cdot 100}{1 \cdot 2} = 65{,}0°$ besaß.

Literatur.

[1]) Fischer, E., Annalen d. Chemie **381**, 136. 1911. — [2]) Irvine, J. C. und Hynd, J., Chem. Soc. **99**, 250. 1911.; **101**, 1128. 1912; **105**, 698. 1914. — [3]) Lobry de Bruyn, C. A. und Franchimont, A. P. N., Recueil de travaux chim. des Pays-Bas 1893. — [4]) Lobry de Bruyn, C. A., B. **28**, 3082. 1895. — [5]) Wohl (s. Lippmann, E. O.), Die Chemie der Zuckerarten. Braunschweig **1**, 504. 1904. — [6]) Irvine, J. C., Thomson, R. F. und Garret, C. S., Journ. Chem. Soc. **103**, 238. 1913. — [7]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **24**, 59. 1916. — [8]) Pringsheim, H. und Ruschmann, S. B. **48**, 680. 1915. — [9]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **31**, 615. 1917; **36**, 73. 1918. — [10]) Fischer und Leuchs, B. **36**, 24. 1903. — [11]) Hudson, C. S., Journ. of the Americ. chem. soc. **31**, 66—86. 1909. — [12]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **23**, 145. 1915. — [13]) Levene, P. A. und Meyer, G. M., Journ. of biol. chem. **26**, 355. 1916. — [14]) Levene, P. A. und Meyer, G. M., Journ. of biol. chem. **31**, 623. 1917. — [15]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **36**, 73. 1918. — [16]) Hudson, C. S., Journ. of the Americ. chem. soc. **39**, 462. 1917. — [17]) Hudson, C. S., Journ. of the Americ. chem. soc. **40**, 813—817. 1918. — [18]) Hudson, C. S. und Komatsu, S., Journ. of the Americ. chem. soc. **41**, 1141—1147. 1919. — [19]) Weermann, Dissertation, veröffentlicht bei A. H. Kruyt, Amsterdam 1916. — [20]) Levene, P. A. und La Forge, F. B., Journ. of biol. chem. **21**, 351—359. 1915. — [21]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **39**, 69—76. 1919. — [22]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **26**, 367—372. 1916; siehe auch Nr. 17. — [23]) Levene, P. A. und La Forge, F. B., Journ. of biol. chem. **22**, 331—335. 1915. — [24]) Levene, P. A. und La Forge, F. B., Journ. of biol. chem. **21**, 351—359. 1915. — [25]) Levene, P. A. und Clark, E. P., Journ. of biol. chem. **46**, 19—33. 1921. — [26]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **26**, 155—162. 1916. — [27]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **26**, 143—154. 1916. — [28]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **31**, 609—621. 1917. — [29]) Hudson, C. S. und Dale, J. K., Journ. of the Americ. chem. soc. **38**, 1431. 1916. — [30]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **36**, 89—94. 1918. — [31]) Fischer und Tiemann, B. **27**, 138. 1894. — [32]) Levene, P. A. und La Forge, F. B., Journ. of biol. chem. **20**, 433—444. 1915. — [33]) Levene, P. A. und La Forge, F. B., Journ. of biol. chem. **18**, 123—130. 1914. — [34]) Ledderhose, Zeitschr. f. physiol. Chemie **4**, 139, 154. 1880. B. **13**, 821. 1880. — [35]) Tiemann, B. **17**, 241—245. 1884. — [36]) Fischer und Andreae, B. **36**, 2587. 1903. — [37]) Neuberg, C. B. **35**, 4009. 1903. — [38]) Neuberg, C. und Wolf, B. **36**, 618. 1903. — [39]) Levene, P. A., Journ. of biol. chem. **24**, 55—57. 1916. — [40]) Levene, P. A. und Matsuo, J., Journ. of biol. chem. **39**, 105—118. 1919.

Über den Mangangehalt von Kartoffeln.

Von

G. Bode und **K. Hembd.**

(Aus dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin.)

(Eingegangen am 3. August 1921.)

Einleitendes.

Die Zusammensetzung der Kartoffelasche ist durch eine große Anzahl von Analysen ermittelt worden. Einschlägige Werke geben hierüber genügende Auskunft. Obwohl fast durchgehend auch die Anwesenheit von Mangan erwähnt wird, fehlen doch genauere Analysenwerte.

Auf das ständige Vorkommen von Mangan in der Kartoffel hatte bereits Bertrand hingewiesen, sich aber nur mit der Feststellung des Mangangehaltes der Laccase beschäftigt. Obwohl die von ihm hieraus abgeleitete Theorie heute längst widerlegt ist, hat sie doch, als der Gedanke noch neu war, keine Veranlassung dazu gegeben, den Gesamtmangangehalt von Kartoffelsorten in größerem Umfange festzustellen. Es hätte immerhin möglich sein können, daß dieser zum Mangangehalt der Oxydase in einem bestimmten Verhältnis stände. Mit dem Zeitpunkt, wo spätere Untersuchungen feststellten, daß für das Zustandekommen der Oxydasewirkung Mangan gar nicht notwendig, sondern durch andere Metallverbindungen vertretbar war, mußten Feststellungen in der oben angedeuteten Richtung unwesentlich erscheinen. Nur vereinzelt findet sich eine kurze Mitteilung ohne Angabe, aus wieviel Bestimmungen der angeführte Mittelwert zustande kam. So bringen F. Jadin und A. Astuc[1]), die eine Reihe von Pflanzenprodukten auf ihren Mangangehalt untersuchten, für 100 g Trockensubstanz von Kartoffeln den Wert von 0,14 mg Mangan. Zweifellos werden in den zur Verarbeitung gekommenen Sorten nicht unerhebliche Wertschwankungen vorgekommen sein. Dies ergibt sich auch aus den von uns weiter unten mitgeteilten Resultaten.

Ob die Höhe des Mangangehaltes von Kartoffeln durch Düngung mit Mangansalzen mit Sicherheit beeinflußbar ist, und ob hierdurch gesteigerte Erträge bedingt werden können, muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Vorläufig ist durch eine größere Reihe von Versuchen festgestellt, daß auf die Keimungsenergie vieler Pflanzenarten durch Mangandüngung eine Reizwirkung ausgeübt wird. Speziell soll die Funktion des Mangans bei der Düngung in der Fähigkeit bestehen, unlösliche Verbindungen des Calciums und Magnesiums in eine lösliche Form überzuführen, was einer Vergrößerung der Aufnahme vorhandener Nährstoffe seitens der Pflanzen gleichkäme[2]). Demgemäß sind auch oft

[1]) Ch. C. **1914**. II. 885.

[2]) Ch. C. **1910**. II. 406 (L. Bernardini).

bei Düngeversuchen mit Mangansalzen gesteigerte Ernteerträge beobachtet worden. Doch liegen hierfür auch negative Erfahrungen vor. Das Untersuchungsmaterial beider Richtungen hat Stoklasa in einer umfassenden Arbeit angegeben[1]).

Eigene Feststellungen.

Ohne die Frage anschneiden zu wollen, ob Mangan für das Gedeihen der Kartoffel ein unerläßlicher Bestandteil sei, wurde in folgendem lediglich die Tatsache zugrunde gelegt, daß das Vorkommen von Mangan in Kartoffeln ständig beobachtet worden ist. Die zur Untersuchung gelangten Kartoffelsorten waren nicht mit Mangansalzen gedüngt worden. Demnach mußten die aufgespeicherten Manganmengen von den einzelnen Sorten je nach Bedürfnis dem Boden entzogen worden sein. Bei einer Düngung mit Mangansalzen hätte vielleicht eine erhöhte Anreicherung von Mangan erfolgen können, die der Eigenart der Pflanze gar nicht entsprach[2]).

Als Untersuchungsmaterial stand die feingemahlene Trockensubstanz von 20 Kartoffelsorten des Jahres 1918 zur Verfügung. Es handelte sich zunächst darum, eine hinlänglich genaue Methode zur Feststellung des immerhin recht geringen Mangangehaltes zu finden. Die sich sonst für kleine Manganmengen recht gut eignende Methode des Persulfatverfahrens nach v. Knorre versagte gänzlich. Die störende Kieselsäure und die relativ große Menge Phosphorsäure mußten zuvor entfernt werden, occludierten aber die geringen Manganmengen derart hartnäckig, daß eine Fällung von Manganperoxyd überhaupt nicht mehr eintrat. Recht gute Ergebnisse wurden dagegen mit der von Marshal angegebenen, colorimetrischen Methode erzielt[3]). Auf die Brauchbarkeit dieser Bestimmungsart von Mangan in organischen Substanzen hatte bereits G. Bertrand hingewiesen[4]).

Von der wasserfreien Trockensubstanz wurden 5 g im Platintiegel auf einem Asbestteller langsam zum Verkohlen gebracht, dann wurde über kleiner Flamme bei dunkler Rotglut verascht. In dieser Weise wurde erreicht, daß sich späterhin die Kieselsäure in der sauren Lösung rasch zu Boden setzte, während sie nach schnellerer Veraschung bei höherer Temperatur oft längere Zeit in Suspension blieb und so die Bestimmung unnötig in die Länge zog. Der zurückbleibende kleine Aschekuchen war von poröser Struktur und zeigte die für Mangan typische blaugrüne Färbung. Unter Wahrung der nötigen Vorsichtsmaßregeln wurde zur Entfernung der Chloride 2 mal mit Schwefelsäure abgeraucht. Manganverluste traten bei dieser Arbeitsweise nicht ein, wie auch eine

[1]) Diese Zeitschr. **91**, 138. 1919.

[2]) Über die häufig vorkommende Ansammlung größerer Quanten von entbehrlichen Aschebestandteilen, vgl. z. B. Pfeffer, Pflanzenphysiologie 1897, § 22.

[3]) Zeitschr. f. analyt. Chemie **43**, 418 u. 655. 1904.

[4]) Zeitschr. f. analyt. Chemie **52**, 580. 1913.

unter ähnlichen Bedingungen ausgeführte neuere Arbeit von D. H. Wester betont[1]). Der Rückstand wurde mit wenig Wasser und 3 ccm Salpetersäure (1,15) aufgenommen und in ein 100 ccm-Meßkölbchen überführt. Hinzugefügt wurden 5 ccm Ammoniumpersulfatlösung (1 : 5) und 10 ccm Silbernitratlösung (1,38 g $AgNO_3$ in 1 Liter Wasser), wie es H. E. Walters als vorteilhafte Konzentration angibt[2]), doch veränderten auch Abweichungen hiervon nicht das Resultat. Dann wurde bis zur Marke aufgefüllt, im Wasserbad bis zur Oxydation erwärmt (85°) und abgekühlt. Nach Absetzen der Kieselsäure wurde von der violett gefärbten Lösung in eine 35 cm hohe Glasröhre mit eingeschliffenem Glasstöpsel und Einteilung in Kubikzentimeter eingefüllt und verglichen mit einer Permanganatlösung, welche in 1 ccm 0,05 mg Mangan enthielt und durch Verdünnen auf die gleiche Farbnuance gebracht wurde[3]).

Zu bemerken wäre hier noch, daß in vereinzelten Fällen die Oxydation zu Permanganat mit einer 1 proz. Kaliumnitratlösung gelang. Der Aschekuchen wurde, ohne die Chloride zu entfernen, direkt mit verdünnter Salpetersäure aufgenommen, dann mit 5 ccm Ammoniumpersulfatlösung und 10 ccm Kaliumnitratlösung (1 proz.) wie oben behandelt. Der Farbton der Permanganatlösung war der gleiche wie der mit Silbernitratlösung erzielte.

In den meisten Fällen versagte jedoch diese vereinfachte Art der Bestimmung; sie wurde vorläufig auch nicht auf die Bedingungen ihres Zustandekommens weiter untersucht.

Mit Hilfe der Methode von Marshal wurden nun im ganzen 20, hierunter 16 verschiedene Kartoffelsorten untersucht. Diese, mit 1—16 bezeichneten, stammten von dem Versuchsfeld (V.F.) Marienfelde (Brandenburg), Nr. 1, 4 und 11 waren außerdem auf dem V.F. Löhme (Brandenburg), Nr. 3 auf dem V.F. Calvörde (Braunschweig) angebaut. Die Versuchsfelder unterschieden sich hinsichtlich ihrer Bodenbeschaffenheit in folgender Weise:

V.F. Marienfelde . lehmiger Sandboden,
V.F. Löhme . . . sandiger Lehmboden,
V.F. Calvörde . . kiesiger Diluvialsandboden.

---

[1]) Diese Zeitschr. **118**; D. H. Wester, Über den Mangangehalt von (holländischen) Samen.

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chemie **43**, 655. 1904.

[3]) Die benutzten Glasröhren waren stets mit Kaliumbichromatlösung von jeder Spur organischer Substanz befreit, ebenso wurde zum Verdünnen nur mit Permanganat gereinigtes, destilliertes Wasser benutzt. Auf Fehlerquellen, welche sich sonst ergeben können, wiesen bereits J. Tillmanns und H. Mildner hin, Journal f. Gasbeleuchtung u. Wasserversorgung 1914, Nr. 23 und König, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genußmittel, 4. Aufl., 1918, Bd. III, Teil 3, S. 541.

In der Asche der Trockensubstanz wurde neben Mangan noch Kieselsäure und Phosphorsäure bestimmt, um ein Bild vom Verhältnis dieser anorganischen Bestandteile untereinander und mit später zu erwähnenden Werten zu gewinnen. Tabelle I gibt die gefundenen Resultate.

Der für Mangan gefundene Mittelwert von 1,4 mg in 100 g Trockensubstanz beträgt gerade das 10fache des von F. Jadin und A. Astuc ermittelten von 0,14 mg Mn. In Anbetracht der Kürze letzterer Mitteilung lassen sich natürlich durch Gegenüberstellung beider Werte keine weiteren Schlüsse ziehen.

Tabelle I.

Nr.	Versuchsfeld	Sorte	Asche %	Mangan in 100 g Trs. mg	SiO_2 %	P_2O_5 %
1	Marienfelde	Richters Imperator	5,01	1,33	0,37	0,70
2	„	Wohltmann Cimbal	5,38	1,15	0,17	0,88
3	„	Greisitzer Wohltmann	5,37	1,24	0,24	0,95
4	„	Deodara	4,99	1,26	0,21	0,71
5	„	Adonis	4,93	1,27	0,17	0,79
6	„	Lotos	5,92	1,63	0,51	0,98
7	„	Silesia	5,74	1,41	0,84	0,86
8	„	Mimosa	5,48	1,91	0,43	0,85
9	„	Belladonna	6,12	1,86	0,87	0,69
10	„	Parnassia	5,75	1,65	0,53	0,82
11	„	Hindenburg	5,20	1,19	0,58	1,01
12	„	Helios	5,14	1,69	0,55	0,82
13	„	Kartz von Kameke	4,69	1,42	0,32	0,89
14	„	Beseler	6,80	1,67	0,62	0,74
15	„	Gratiola	5,20	1,31	0,33	0,71
16	„	Goldspende	5,13	1,21	0,45	0,84
1	Löhme (Schmidt)	Richters Imperator	4,74	1,37	0,58	0,60
4	„ „	Deodara	4,90	1,19	0,29	0,62
11	„ „	Hindenburg	5,72	1,34	0,29	0,85
3	Calvörde (Vibrans)	Greisitzer Wohltmann	4,78	0,85	0,11	0,72
		Mittelwert	5,35	1,40	0,42	0,80
		Auf Asche berechnet		26,2	7,85	14,99

Jedenfalls geht aus Tabelle I schon hervor, daß die anorganischen Bestandteile der Asche von der Bodenbeschaffenheit in bis jetzt noch unkontrollierbarer Weise beeinflußt werden. Gleiche Kartoffelsorten zeigen auf verschiedenen Versuchsfeldern abweichende Aschezusammensetzungen. Besonders tritt dies bei Sorte 3 „Greisitzer Wohltmann" hervor, welche einmal den Manganwert 1,24 mg, das andere Mal 0,85 mg aufweist. Die Genauigkeit der colorimetrischen Methode ist derart, daß solche Differenz durch ihr anhaftende Mängel nicht verursacht werden kann.

Im Stoffwechselbetrieb der Kartoffel scheint das Mangan lediglich durch die Anwesenheit eines beliebigen Quantums die gewünschte

Wirkung als Sauerstoffkatalysator auszuüben. Die Fähigkeit, wie das Eisen mit Eiweißstoffen Komplexe zu bilden, ist beim Mangan bisher nicht beobachtet worden, jedoch kann es im Kreislauf der Pflanze als kolloides Oxyd oder als ein mit Hilfe der Wurzelsäuren gebildetes, lösliches Salz (saures Carbonat) bestehen. In der Asche ist es meist als Phosphat zugegen, weil die durch die Veraschung aus organischen Komplexen freiwerdende Phosphorsäure zur Bindung herangezogen wird. Deshalb steht auch, wie die Tabelle I zeigt, die in der Asche gefundene Menge Phosphorsäure in keinem bestimmten Verhältnis zu dem vorhandenen Mangan. Der auf Asche berechnete Mittelwert für Phosphorsäure ist als normal zu bezeichnen, der Kieselsäurewert ist bemerkenswert hoch[1]).

Nach allen bisherigen Beobachtungen ist die durch das physiologische Wahlvermögen der Pflanze bedingte Aufspeicherung von Aschebestandteilen, welche über das Bedürfnis ihres Stoffwechsels hinausgehen, oft sogar ganz entbehrlich sind, ein Gebiet, auf welchem wir noch größtenteils auf Vermutungen angewiesen sind. Die 3 Metalle, Mangan, Eisen, Calcium, scheinen sich gegenseitig vertreten zu können, maßgebend ist hierfür die Bodenbeschaffenheit und die spezifische Aufnahmefähigkeit der Wurzelzellen für das eine oder das andere Metall in das Plasma. Wie wenig sich die Zusammensetzung der Aschebestandteile speziell im Wege der Düngung mit Mangansalzen beeinflussen läßt, geht durch Versuche hervor, welche von Paul Ehrenberg und Otto Nolte angestellt wurden[2]). Wir können hiernach auch kaum erwarten, daß von Art und Menge der Aschebestandteile die sonstigen Eigenschaften der Kartoffel beeinflußt werden. Zur Veranschaulichung sind in einer zweiten Tabelle diejenigen Faktoren zusammengestellt, welche darüber Auskunft geben könnten: Eiweißgehalt, Stärkeertrag, Knollenertrag. Auch die für den Stoffwechselbetrieb der Pflanze charakteristische „Melaninzahl" sei erwähnt, in welcher nach H. Haehn[3]) zum Ausdruck gebracht wird, wie groß die Wirksamkeit des für jede Kartoffelsorte spezifischen Tyrosinasegehalts ist.

Mit keinem der in Tabelle I angeführten anorganischen Bestandteile lassen sich die Werte der Tabelle II in irgendeine Beziehung setzen. Besonders der Mangangehalt mancher Sorten steht zu ihrer Melaninzahl und ihren Ertragswerten in direktem Widerspruch. Eine Kartoffel, wie z. B. die „Greisitzer Wohltmann" vom V.F. Calvörde besitzt einen sehr hohen Knollenertrag, eine hohe Melaninzahl und den geringsten

[1]) Über die beobachteten Grenzwerte für P_2O_5 von 8,2—27,1% und für SiO_2 von 0,16—8,1%. Vgl. Wolff, Aschenanalysen 1871 und 1880 und König, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genußmittel. 4. Aufl., 1918.

[2]) Paul Ehrenberg, und Otto Nolte Landw. Vers.-Stat. **90**, 135—145.

[3]) Hugo Haehn, diese Zeitschr. **100**, 119. 1919.

Tabelle II.

Nr.	Versuchsfeld	Sorte	Eiweiß %	Melanin-zahl	Knollen-ertrag Dz. v. Ha.	Stärke-ertrag Dz. v. Ha.	Mangan in 100 g Trs. mg
1	Marienfelde	Richters Imperator	8,14	9,3	92,8	13,8	1,33
2	„	Wohltmann Cimbal	6,90	8,3	167,8	25,5	1,15
3	„	Greisitzer Wohltmann	7,28	7,0	182,7	29,6	1,24
4	„	Deodara	7,15	7,5	184,4	28,4	1,26
5	„	Adonis	7,84	7,3	210,4	27,4	1,27
6	„	Lotos	7,80	8,7	170,6	22,9	1,63
7	„	Silesia	6,82	7,5	209	35,0	1,41
8	„	Mimosa	8,14	7,5	194,6	27,0	1,91
9	„	Belladonna	6,92	6,9	181,6	28,5	1,86
10	„	Parnassia	7,65	8,4	201	37,2	1,65
11	„	Hindenburg	8,17	8,6	185	29,6	1,19
12	„	Helios	8,22	6,4	161,3	28,6	1,69
13	„	Kartz v. Kameke	8,55	6,9	221,7	34,1	1,42
14	„	Beseler	7,46	12,4	163,7	26	1,67
15	„	Gratiola	8,08	10,7	155,2	25,5	1,31
16	„	Goldspende	6,42	11,1	188,4	31,5	1,21
1	Löhme (Schmidt)	Richters Imperator	6,37	6,8	265,5	34,2	1,37
4	„ „	Deodara	6,45	8,8	331,3	52,7	1,19
11	„ „	Hindenburg	8,63	7,1	350,8	46,2	1,34
3	Calvörde (Vibrans)	Greisitzer Wohltmann	6,66	10,1	336,3	57,2	0,85

Mangangehalt, während „Belladonna“ vom V.F. Marienfelde einen hohen Manganwert und im übrigen nur Durchschnittswerte aufweist.

Wir können somit für unseren Fall als erwiesen betrachten, daß, wie die übrigen Aschebestandteile, auch die Höhe des Mangangehalts von Kartoffeln keinen Maßstab zur Beurteilung ihrer sonstigen Eigenschaften bietet.

Das grüne Atmungspigment und seine Bedeutung bei der Oxydation der Eiweißkörper in den keimenden Samen des Helianthus Annuus.

Von

Alexander Oparin.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Moskau.)

(Eingegangen am 4. August 1921.)

In den Samen der Sonnenblume befindet sich ein Körper, der seinen Eigenschaften nach sehr nahe den Gerbsäuren steht. Zuerst wurde dieser Körper von Famintzin[1]), dann von Ludwig und Kromeyer[2]) beobachtet, aber nur Gorter[3]) gelang es, diesen Körper krystallisiert zu gewinnen, der von ihm als Chlorogensäure bezeichnet wurde. Der genannte Autor untersuchte die Chlorogensäure eingehend und stellte für sie sowohl die empirische $C_{32}H_{33}O_{19}$ als auch die Strukturformel fest. Die chemische Natur dieser Verbindung ist somit aufgeklärt, aber ihre physiologische Bedeutung bleibt ganz unklar. Doch erweckt die große Verbreitung dieses Körpers im Pflanzenreich (die Chlorogensäure wurde in etwa 100 Pflanzenarten gefunden) ein gewisses Interesse. Die Fähigkeit der Alkalilösung der Chlorogensäure, sich grün zu färben nur in Gegenwart von Sauerstoff, legt die Vermutung nahe, daß wir hier mit einem „Atmungspigment" in dem Sinne Palladins zu tun haben.

Um Aufschlüsse über diesen Gegenstand zu gewinnen, wurde die Fähigkeit der Chlorogensäurelösung, Sauerstoff zu absorbieren, in quantitativer Hinsicht näher untersucht. Die Untersuchung wurde von mir in zwei Richtungen durchgeführt. Einerseits wurde die Chlorogensäurelösung ins Eudiometer gebracht und der absorbierte Sauerstoff gemessen, andererseits wurde die völlig oxydierte Chlorogensäure in das Kalksalz übergeführt und analysiert. Der Versuch im Eudiometer ergab, daß auf jedes Molekül Chlorogensäure 2 Atome Sauerstoff absorbiert werden.

[1]) Arbeiten des Botanischen Laboratoriums der Kaiserlichen Akademie St. Petersburg 1893. Nr. 6.

[2]) Arch. d. Pharmazie **99**. 1 u. 285.

[3]) Arch. d. Pharmazie **247**, 148 u. 436. 1909; Annalen d. Chemie **358** u. **359**.

Die Ergebnisse der Elementaranalyse deuten klar auf folgende empirische Formel:

$$\text{vor der Oxydation } CaC_{32}H_{36}O_{19} + 2\,H_2O,$$
$$\text{nach der Oxydation } CaC_{32}H_{32}O_{19} + 2\,H_2O,$$

woraus zu schließen ist, daß der Sauerstoff sich nicht direkt mit dem Molekül der Chlorogensäure verbindet, sondern von letzterer 4 Atome Wasserstoff wegnimmt.

Dieser Oxydationsprozeß der Chlorogensäure, der für sich allein sehr langsam verläuft, kann fast um das 20fache beschleunigt werden durch Zusatz einer kleinen Menge Phenolase aus den Samen der Sonnenblume.

Das grüne Pigment, das bei der Oxydation der Chlorogensäure durch den Sauerstoff entsteht, ist ein energischer Wasserstoffacceptor und als solcher kann er das Methylenblau in den Versuchen von Bredig und Sommer[1]) ersetzen (Oxydation des Formaldehyds in Gegenwart von Platin und Methylenblau). Die Chlorogensäure hat also die Fähigkeit, sich durch den Sauerstoff der Luft zu oxydieren, wobei sie 4 Atome Wasserstoff unter Pigmentbildung verliert. Das Pigment kann als Acceptor des Wasserstoffes bei den gekoppelten unter Wasserspaltung verlaufenden Oxydo-Reduktions-Reaktionen fungieren, wobei es wieder zu Chlorogensäure reduziert wird.

Um festzustellen, inwieweit das grüne Pigment die Oxydation der Nährstoffe in den keimenden Samen zu fördern imstande ist, führte ich Oxydationsversuche mit Aminosäuren, Polypeptiden, Peptonen und Eiweißkörpern in Gegenwart der genannten Verbindung aus.

Bereits im Jahre 1862 gelang es Strecker[2]) Aminosäuren auf Kosten des Sauerstoffs des Wassers in Gegenwart von Alloxan zu oxydieren, wobei die Reaktion gemäß der Gleichung verläuft:

$$RCHNH_2COOH + O \rightarrow RCHO + CO_2 + NH_3.$$

Später[3]) wurden verschiedenartige Methoden der Oxydation der Aminosäuren angewandt, die Umsetzung nahm einen ähnlichen Verlauf.

Ich untersuchte folgende natürliche Aminosäuren: Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin, Lysin, Histidin, Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan und Prolin. In allen Fällen konnte ich das Auftreten von Ammoniak, Kohlensäure und Aldehyden der nächst niederen Fettreihe feststellen. In Gegenwart von Kohlensäure und vor allem von Phosphorsäure verläuft die Reaktion viel schneller. Für die quantitativen Versuche wurden 0,15—0,35 g Aminosäure mit 0,1—0,2 g Chlorogensäure in wässeriger Lösung vermischt, das Gemisch wurde durch Zusatz von Soda leicht alkalisiert und in der Wärme 4 Tage

[1]) G. Bredig und F. Sommer, Zeitschr. f. physikal. Chemie **70**, 34. 1909.
[2]) A. Strecker, Liebigs Ann. d. Chem. **123**, 363. 1862.
[3]) C. Neuberg und Mitarb., Dtsch. med. Wochenschr. 1901; diese Zeitschr. **13**, 305. 1908; **20**, 531. 1909. — H. Dakin, Journ. of biol. chem. **4**, 63. 1908. — K. Langheld, B. **42**, 2360. 1909.

lang stehengelassen. Nach Verlauf dieser Zeit wurde der entstandene Ammoniak im Vakuum in Gegenwart von Magnesiumoxyd abdestilliert und in $^1/_{10}$n-Schwefelsäure aufgefangen. Im Rückstand nach der Destillation wurde der Aminostickstoff nach van Slyke[1]) bestimmt. Bei diesen Versuchen wurde stets beobachtet, daß 10—20% der angewandten Aminosäure der Oxydation unterlagen. In den Kontrollversuchen wurde nie das Auftreten von Ammoniak festgestellt. Als Beispiel sollen einige Zahlen angeführt werden:

Bezeichnung	Angew. Aminosäure	Angew. Chlorogensäure	Gefund. Amon.	Rest-Aminosäure	%
Glykokoll	0,1887 g	0,1331 g	0,0057 g	0,1581 g	16,2
Alanin	0,2552 g	0,2100 g	0,0076 g	0,1968 g	19,8
Arginin	0,2070 g	0,1602 g	0,0020 g	0,1808 g	12,7
Asparagin	0,1532 g	0,1012 g	0,0029 g	0,1255 g	18,1

Oxydationsversuche mit Harnstoff und Guanidin ergaben negative Resultate.

In Hinblick auf die Oxydation der Polypeptide in Gegenwart von Chlorogensäure sei zunächst die Arbeit von Pollack[2]) erwähnt. Dieser Forscher hat bei der Oxydation des Glycyl-Glycins mittels Calciumpermanganats Ammoniak und Oxalylamidoessigsäure erhalten. Letztere zerfällt beim Kochen mit starker Salzsäure in Ammoniak, Oxalsäure und Essigsäure. Ich habe Oxydationsversuche mit Glycyl-Glycin und Alanyl-Alanin in Gegenwart von Chlorogensäure angestellt. Das Gemisch von Polypeptid und Chlorogensäure in sodaalkalischer Lösung wurde unter aseptischen Bedingungen 6—7 Tage unter öfterem Schütteln stehengelassen. Die Reaktion verlief in der von Pollack angegebenen Weise: Glycyl-Glycin lieferte Ammoniak und Oxalylamidoessigsäure, und Alanyl-Alanin ergab Ammoniak und eine Säure, die unter der Einwirkung von starker Salzsäure in Ammoniak, Propionsäure und Brenztraubensäure zerfällt. Ähnliche Resultate wurden mit Pepton erhalten. Es unterliegt keinem Zweifel, daß sämtliche Spaltungsprodukte des Eiweißes und das Eiweiß selbst in Gegenwart von Chlorogensäure unter Abspaltung von Ammoniak oxydiert werden. Es schien daher von Interesse, den Prozeß der regressiven Metamorphose des Eiweißes in keimenden Samen bei der gleichzeitigen Wirkung des proteolytischen Fermentes und eines Oxydationsagens, wie die Chlorogensäure, etwas näher kennenzulernen. In dieser Richtung wurden folgende Versuche ausgeführt: 1. Versuche über die gleichzeitige Einwirkung des proteolytischen Fermentes, das von mir aus den Samen der Sonnenblume dargestellt wurde, und der Chlorogensäure auf Eiweiß; 2. Autolyse der keimenden Samen; 3. Versuche mit lebenden Samen. In erster und

[1]) Handbuch der Bioch. Arbeit **5**. (II). S. 995 u. 1011.
[2]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 16. 1906.

zweiter Versuchsreihe blieben die Lösungen 2 Wochen lang unter täglichem Schütteln stehen. Als Antisepticum dienten Toluol und Chloroform. Nach Beendigung der Versuche wurden Proben der Versuchslösungen auf ihre Sterilität untersucht. Für die Autolyseversuche wurde das entfettete Mehl der 7tägigen Keime angewandt, wobei in der zweiten Versuchsreihe das Mehl mittels absolut trockenen Methylalkohols extrahiert wurde. Dadurch wurde aus dem Mehl die sämtliche Chlorogensäure entfernt, die Fermente aber wurden nur etwas abgeschwächt. Für die Versuche mit lebenden Samen wendete ich die 4tägigen Keime an, dabei wurde von letzteren ein Teil sofort getrocknet (Kontrolle), ein anderer Teil blieb noch 2 Tage keimen unter Sauerstoffzutritt, und ein dritter Teil wurde ebenfalls noch 2 Tage der Keimung überlassen, aber im sauerstoffreien Raume. Letzterer Teil blieb bis zum Abschluß des Versuches am Leben und zum Wachsen an der Luft fähig. Die Analysen wurden in sämtlichen Fällen in folgender Weise ausgeführt: Das Eiweiß wurde durch Kochen der mit Essigsäure angesäuerten Lösung koaguliert. Das Pepton wurde mittels kolloidalen Eisenoxydhydrat darauf ausgefällt, und sodann das Filtrat nach der Methode von van Slyke analysiert. In einem anderen Anteil des Filtrates wurden die Hexonbasen mittels Phosphorwolframsäure gefällt und in dem Filtrat wurde die Bestimmung des Ammoniaks nach Sachs ausgeführt. Die nach dem Entfernen des Ammoniaks resultierende Flüssigkeit wurde mit starker Salzsäure hydrolysiert, und in dem Hydrolysat wurden Ammoniak und Aminostickstoff bestimmt. Die dabei erhaltenen Zahlen beziehen sich auf Körper vom Typus der Oxalylamidoessigsäure. Die Resultate der Analysen sind in folgenden Tabellen angegeben. Jede Zahl ist das Mittel aus wenigstens 2 Bestimmungen. Alle Zahlen in den Tabellen sind Prozente vom Gesamtstickstoff. Für die Analysen wurden solche Substanzmengen angewandt, daß jedem Prozent der Tabelle ungefähr 0,012 g von Stickstoff entspricht.

Tabelle I.

Einwirkung des proteolytischen Fermentes und der Chlorogensäure auf Eiweiß.

	Eiweiß-stick-stoff	Pepton-stick-stoff	Sämtl. Stick-stoff im Filtrate	Ammo-niak-stick-stoff	Amino-stick-stoff	Diffe-renz	Ver-suchs-Fehler
Eiweiß + inactiviertes Ferment	97,76	0,42	1,82	0,08	0,81	0,93	0
Eiweiß + inactiviertes Ferment + Chlorogensäure	97,51	0.28	2,04	0,18	0,51	1,35	−0.03
Eiweiß + wirksames Ferment	86,15	1,80	12,01	0,15	7,14	4,72	0,04
Eiweiß + wirksames Ferment + Chlorogensäure	86,51	0,95	12,57	1,03	4,36	7,18	−0.03

Tabelle II. Autolyse des entfetteten Mehls der keimenden Samen.

		Eiweißstickstoff	Peptonstickstoff	Gesamtstickstoff im Filtrate	Versuchsfehler	Ammoniakstickstoff	Sämtlicher Aminostickstoff	Sämtl. Stickstoff der Hexonbasen	Aminostickstoff der Hexonbasen	Guanidinstickstoff Arginins	Stickstoff im Filtrate d. Hexonbasen	Aminostickstoff im Filtrate der Hexonbasen	Stickstoff nach Sachs	Ammoniakstickstoff nach der Hydrolyse	Aminostickstoff nach der Hydrolyse
Ursprüngliches Keimenmehl	Vor der Autolyse (Kontrolle) . . .	67,54	4,44	28,00	0,02	1,71	9,94	6,76	1,74	1,45	19,53	8,20	1,04	0,85	5,32
	Nach der Autolyse; die Fermente durch Kochen zerstört	66,78	3,11	30,08	0,03	2,80	8,46	7,25	1,41	1,52	18,95	7,05	1,22	1,05	6,40
	Nach der Autolyse bei Sauerstoffzutritt	49,29	4,68	46,01	0,02	6,99	15,22	9,93	2,20	1,20	29,08	12,02	3,23	1,75	6,98
	Nach der Autolyse ohne Sauerstoffzutritt	44,24	7,02	48,70	0,04	4,36	26,88	13,36	4,81	1,11	31,18	22,07	3,59	0	0,41
Keimenmehl, aus dem mittels Methylalkohols die Chlorogensäure entfernt wurde	Vor der Autolyse (Kontrolle) . . .	76,85	8,11	14,98	0,06	0,75	2,21	6,83	1,89	1,95	7,40	0,32	0,51	0,91	5,38
	Nach der Autolyse	67,13	7,06	25,80	0,01	2,48	10,41	10,91	3,79	1,82	12,41	6,62	1,35	0,71	3,13
	Nach der Autolyse bei Gegenwart der Oxydase	67,00	7,00	25,99	0,01	2,50	10,52	10,98	3,82	1,80	12,51	6,70	1,36	0,73	3,15
	Nach der Autolyse bei Gegenwart der Chlorogensäure	67,50	6,32	26,16	0,02	3,18	7,32	9,70	2,64	1,82	13,28	4,68	1,31	0,81	5,75
	Nach der Autolyse bei Gegenwart der Oxydase und der Chlorogensäure	67,81	4,13	28,06	0	3,88	6,83	10,29	2,51	1,90	13,89	4,32	1,52	1,01	6,44

Tabelle III. Analyse der lebenden Samen.

	Kontrollportion	Bei Sauerstoffzutritt wachsende Portion	Ohne Sauerstoffzutritt wachsende Portion
Eiweißstickstoff	77,84	67,81	70,66
Peptonstickstoff	3,31	3,54	8,87
Gesamtstickstoff im Filtrate	18,81	28,57	20,45
Versuchsfehler	0,04	0,04	0,02
Ammoniakstickstoff	0,58	1,85	0,83
Sämtlicher Aminostickstoff	6,32	9,58	9,79
Sämtlicher Stickstoff der Hexonbasen	4,56	6,68	6,96
Aminostickstoff der Hexonbasen	1,08	1,57	1,78
Guanidinstickstoff des Arginins	1,03	1,41	1,01
Stickstoff im Filtrate der Hexonbasen	13,67	20,04	12,66
Aminostickstoff im Filtrate der Hexonbasen	5,24	8,01	8,01
Stickstoff nach Sachs	0,36	0,90	0,61
Ammoniakstickstoff nach der Hydrolyse	0,77	0,88	0,12
Aminostickstoff nach der Hydrolyse	4,89	5,42	1,92

Tabelle IV.

Analyse der Produkte, die bei der Hydrolyse mit Salzsäure aus den Eiweißkörpern der Sonnenblume erhalten wurden (die Hydrolyse ist nach der van Slyke-Methode durchgeführt worden:

Ammoniakstickstoff	12,51
Melaninstickstoff	2,37
Gesamtstickstoff im Filtrate	59,62
Aminostickstoff im Filtrate	49,84
Sämtlicher Stickstoff der Hexonbasen	25,47
Aminostickstoff der Hexonbasen	10,00
Guanidinstickstoff des Arginins	6,94
Versuchsfehler	0,03

Aus den angeführten Tabellen geht hervor, daß bei gleichzeitiger Gegenwart von Chlorogensäure und Sauerstoff mehr „freier Ammoniak" und „Ammoniak- und Aminostickstoff nach der Hydrolyse" sich bildet als in Abwesenheit des einen oder des anderen Komponenten. Dagegen findet in letzterem Falle eine Vermehrung des „Peptonstickstoffs" und des „Aminostickstoffs" statt. Außerdem aus den dargelegten Bestimmungen herausgehend, kann man für jeden dieser Fälle genau die Quantität des Aminostickstoffs, der beim Versuche in Ammoniakstickstoff übergeht, feststellen.

Tabelle V[1]).

		Ammoniakst. aus Aminos.
Ursprüngliches Keimenmehl	Vor der Autolyse (Kontrolle)	0,00
	Nach der Autolyse (die Fermente sind durch Kochen zerstört)	1,00
	Nach der Autolyse bei Sauerstoffzutritt	3,71
	Nach der Autolyse ohne Sauerstoffzutritt	0,75

[1]) Alle Zahlen sind Prozente vom Gesamtstickstoff.

		Ammoniak-t. aus Amin.-s.
Keimenmehl, aus dem mittels Methylalkohols die Chlorogensäure entfernt wurde	Vor der Autolyse (Kontrolle)	0,00
	Nach der Autolyse	0,74
	Nach der Autolyse in Gegenwart der Oxydase	0,70
	Nach der Autolyse in Gegenwart der Chlorogensäure	1,40
	Nach der Autolyse in Gegenwart der Oxydase und der Chlorogensäure	2,07
Lebende Samen	Kontrollportion	0,00
	Bei Sauerstoffzutritt wachsende Portion	0,95
	Ohne Sauerstoffzutritt wachsende Portion	0,08

Diese Zahlen beweisen klar den Zusammenhang, der zwischen den Oxydationsprozessen in den keimenden Samen und der Spaltung der Aminosäuren besteht.

Daraus ergibt sich, daß bei gleichzeitiger Einwirkung des proteolytischen Ferments und des Oxydationsagens der keimenden Samen die darin enthaltenen Eiweißkörper unter Abspaltung der Aminogruppen als Ammoniak zerfallen. In der lebenden Pflanze wird der abgespaltene Ammoniak weiter zur Synthese des Asparagins oder Glutamins verbraucht.

Zum Schlusse möchte ich den Herren Professoren Th. Kraschenninnikof und A. Bach meinen besten Dank für ihre Ratschläge bei der Ausführung der vorliegenden Arbeit aussprechen.

Über eine Veränderung des Glykogens durch Belichtung.

Von

Gustav Bayer.

(Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Innsbruck.)

(Eingegangen am 5. August 1921.)

Es war mir aufgefallen, daß ein meines Erinnerns seit mindestens 16 Jahren im Institute vorrätiges, in hellem Glasfläschchen verwahrtes Glykogenpräparat der Firma Theodor Schuchardt, Görlitz, fast ganz unlöslich in Wasser war, während ein wohl seit ebensolanger Zeit aufbewahrtes Präparat derselben Firma in dunkelbraunem Fläschchen sehr gut, ebenso leicht und vollkommen wie ein von uns selbst frisch aus Kaninchenleber hergestelltes Glykogen löslich war. Man konnte infolgedessen vermuten, daß das Glykogen im hellen Glasgefäß sich im Laufe der Jahre unter dem Einflusse des Lichtes verändert habe.

Zur Nachprüfung dieser Vermutung wurde eine geringe — leider allzu geringe — Menge eines nach S. Fränkels Trichloressigsäureverfahren frisch aus Kaninchenleber hergestellten und wiederholt mit Alkohol umgefällten Glykogens in lufttrockenem Zustand in ein dünnwandiges Reagensglas eingeschmolzen und dieses auf weißer Porzellanunterlage liegend unter Ausbreitung des feinst gepulverten Glykogens in möglichst dünner Schicht ein ganzes Jahr lang vor einem südseitigen Fenster der Wirkung des Sonnenlichtes derart ausgesetzt, daß fast die ganze Sonnenscheindauer (sie beträgt für Innsbruck ungefähr 1500 Stunden) ausgenützt wurde. Eine andere Probe desselben Präparates wurde als Kontrolle im Dunklen aufbewahrt.

Nach Ablauf dieser Zeit zeigten sich in der Tat beachtenswerte Unterschiede zwischen dem belichteten und dem unbelichteten Präparat hinsichtlich der Löslichkeitsverhältnisse. Während sich das unbelichtete Präparat bis zu sehr hohen Konzentrationen unter Aufquellen und Durchsichtigwerden seiner Teilchen in Wasser löst — auch 20proz. Lösungen lassen sich leicht herstellen —, ist das belichtete Präparat zum großen Teil unlöslich; ein Teil des Pulvers quillt und gibt eine opalescente Lösung, während ein sehr erheblicher Anteil nicht quillt und dauernd ungelöst bleibt. Der lösliche Anteil besteht zweifellos

aus unverändertem Glykogen, gibt dessen Jodreaktion und zeigt die gleichen Fällungsgrenzen bei Alkoholfällung [Beginn bei 35.5%, Ende bei 55% Alkoholgehalt][1]).

Der wasserunlösliche Anteil, durch wiederholtes Ausziehen mit warmem Wasser vom beigemischten, unveränderten Glykogen befreit, bleibt auch nach 24 Stunden in 10gewichtsproz. Ammoniaklösung bei Zimmertemperatur ungelöst, löst sich hingegen leicht beim Erhitzen in 60proz. Kalilauge auf. Eine so hergestellte Lösung ist opalescent und wird in ihr durch 2 Volumina absoluten Alkohols ein flockiger Niederschlag erzeugt. Dieser löst sich nunmehr leicht unter Opalescenz in Wasser und ist nach Jodreaktion, seinen Alkoholfällungsgrenzen und der Menge des bei Invertierung gelieferten Zuckers als Glykogen anzusprechen.

Das durch Belichtung entstandene wasserunlösliche Derivat des Glykogens wird durch Mundspeichel und durch Pankreas leicht saccharifiziert; ebenso wird das Präparat in 2proz. Salzsäure leicht (bei 70° C bereits in 10 Minuten) gespalten, wobei zunächst eine die mahagonibraune Jodreaktion gebende, nicht opalescente Lösung entsteht. Bei weiterer Einwirkung verschwindet alsbald die Jodreaktion, als Endprodukt wird Traubenzucker gebildet.

Mikroskopisch betrachtet besteht das unlösliche Glykogenderivat aus durchscheinenden amorphen Schollen, die sich nach Zusatz von Jodjodkaliumlösung je nach der Konzentration des Jod dunkelorange, rotbraun bis schwarzbraun färben, ihre Färbung aber bei Erwärmung sowie bei Aufschwemmung in destilliertem Wasser rasch verlieren. Bei Zusatz von Natriumacetat wird, wie das von Zander[2]) bei den Glykogenlösungen beobachtet worden war, der Farbenton dunkler und nimmt einen violetten Stich an. Auch diese Färbung verschwindet, allerdings viel langsamer, beim Erwärmen.

Ferner versuchte ich an dem mit Albumin-Glycerin auf den Objektträger angeklebten Präparat die Bestsche Glykogenfärbung, wozu als Kontrollen einerseits das gleicherweise angeklebte, unbelichtete Glykogen in Substanz, anderseits (als Kontrolle auf die Färbtüchtigkeit der Farblösung) eine glykogenreiche Leber verwendet wurde. Es ergab sich, daß das unlöslich gewordene belichtete Glykogen in prachtvoller Weise sich färbte und in Form leuchtend roter Körnchen in der farblosen Einbettungsmasse lag.

Nach all dem könnte man vermuten, daß der durch Lichteinwirkung unlöslich gewordene Teil des Glykogens ein Polymeres desselben darstellt. Leider reichte die, wie vorhin erwähnt, nur geringe Menge, die von dem Präparate zur Verfügung stand, nicht aus, diese

[1]) Vgl. Chr. Tebb, Journ. of physiol. **22**. 1898.
[2]) E. Zander, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **66**. 1897.

Auffassung zu sichern und die Frage zu entscheiden, ein wievielfaches des Glykogens die neugewonnene Substanz sei. Eine solche Polymerisation wäre wohl darum beachtenswert, weil ja im allgemeinen unter dem Einflusse von Lichtenergie Molekülverkleinerungen eintreten und auch am (gelösten) Glykogen (in Anwesenheit von Eisen- oder Uransalzen als Katalysatoren) von C. Neuberg[1]) tatsächlich beobachtet worden sind. Eine Analogie zu unserer Beobachtung wäre in der Entstehung unlöslicher „künstlicher" Stärke aus Amylose unter Hitzeeinwirkung[2]) gegeben.

Andererseits stehen aber der Auffassung der beschriebenen Veränderung am Glykogen als einer rein chemischen Polymerisation wohl alle jene Bedenken gegenüber, welche gegen die von Roux und von Maquenne angenommene Stärkepolymerisation von M. Sameč[3]) geltend gemacht worden sind. Es muß auch bei der Umwandlung des Glykogens, über die hier berichtet wurde, die Möglichkeit einer rein physikalischen Zustandsänderung im Sinne einer Alterung — etwa die Umwandlung hydrophiler solbildungsfähiger Oberflächenkomplexe in wasserärmere („dehydratisierte" nach Sameč) nicht quellbare und daher auch nicht lösungsbedingende im Auge behalten werden.

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**. 1908 u. **29**. 1910.

[2]) E. Roux, C. R. Acad. des Sciences **140**. 1905; Bull. de la soc. chim. de France **33**. 905.

[3]) M. Sameč, Kolloidchem. Beihefte, **4**. 1912.

Über den Einfluß der venösen Stauung auf den Quellungszustand der Blutkörperchen.

Von

Josef Aiello (Rom).

(Aus der III. medizinischen Abteilung und dem Chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitales in Wien.)

(Eingegangen am 6. August 1921.)

Für die chemische Untersuchung des Blutes bedient man sich sehr häufig des aus einer gestauten Armvene entnommenen Blutes. Es ist daher von Interesse zu wissen, ob unter dem Einfluß der Stauung Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des Gesamtblutes und auch in der Verteilung der Bestandteile auf Plasma und Körperchen eintreten. Es ist nun seit langem bekannt, daß das gestaute Blut etwas konzentrierter ist als das nichtgestaute Blut. Die Zahl der Blutkörperchen ist im gestauten Blut etwas erhöht, ebenso der Eiweißgehalt des Serums, wie die Bestimmung des Trockenrückstandes und der Refraktion zeigt. Auch das spezifische Gewicht nimmt etwas zu [Nasse[1])].

Wie M. Richter-Quittner im hiesigen Laboratorium gezeigt hat, genügt es bei Veränderungen im Wassergehalt des strömenden Blutes nicht, ausschließlich den Wasser- bzw. Eiweißgehalt des Serums zu bestimmen, da sich auch die Blutkörperchen an den Schwankungen des Wassergehaltes beteiligen und daher die alleinige Bestimmung des Wassergehaltes des Serums uns unter Umständen kein richtiges Bild über die Veränderungen des Blutes gibt. So tritt z. B. nach Verfütterung von Kaliumsalzen, von Zucker und Harnstoff zwar eine Verwässerung des Gesamtblutes und des Serums ein, während die Körperchen eine deutliche Entquellung zeigen, andererseits findet sich z. B. nach Verfütterung von Natriumsalz, Calciumsalz, Magnesiumsalzen ebenfalls eine Verwässerung des Gesamtblutes, aber gleichzeitig eine Quellung der Blutkörperchen. Es war daher von Interesse zu untersuchen, ob durch die venöse Stauung der Quellungszustand der Blutkörperchen eine Veränderung erfährt.

[1]) Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **20**.

Ich bediente mich bei meinen Untersuchungen derselben Methode wie sie in der Arbeit von M. Richter - Quittner ausführlich beschrieben worden ist. Der Trockenrückstand der Blutkörperchen wurde auf indirektem Wege ermittelt, indem der Trockenrückstand des Gesamtblutes des durch Schütteln mit Glasperlen defibrinierten oder durch Hirudin ungerinnbar gemachten Gesamtblutes, ferner der Trockenrückstand des Serums bzw. Plasmas und endlich das Blutkörperchenvolumen mittels des Hämatokriten bestimmt und aus diesen Größen der Trockenrückstand der Blutkörperchen berechnet wurde. In der Tabelle findet sich nicht der Trockenrückstand, sondern der daraus berechnete Wasser gehalt vermerkt. Bezüglich der näheren Details und der nötigen Kau telen verweise ich auf die Arbeit von M. Richter - Quittner. Meine Untersuchungen finden sich in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Name	Alter	Diagnose	Ohne Stauung				Mit Stauung			
			H_2O Blutk.-Vol.	H_2O Blut	H_2O Serum	H_2O Blutkörp.	H_2O Blutk.-Vol.	H_2O Blut	H_2O Serum	H_2O Blutkörp.
Hund, 7,300 kg			45,3	75,13	83,00	**65,51**	46,2	73,34	82,82	**61,80**
Dr. F. M.	32 J.	Normal	47,9	78,45	89,80	**66,12**	49,3	76,40	88,90	**63,49**
F. R.	27 „	„	40,3	82,02	90,42	**66,30**	41,6	80,05	88,50	**70,00**
Dr. L.	28 „	„	46,2	78,10	90,18	**64,00**	47,1	77,45	88,79	**66,70**
Franz L.	28 „	„	45,0	80,38	91,61	**66,66**	46,0	78,34	90,49	**63,90**
M.	55 „	Apoplexie	47,2	73,84	86,48	**59,50**	49,4	70,12	85,12	**54,90**
Maria S.	45 „	Schwämmevergiftung	46,4	75,55	89,59	**59,46**	47,2	74,07	90,00	**56,04**
F.	40 „	Nephritis (Mischform)	46,2	81,52	90,82	**76,57**	47,6	80,53	91,65	**68,09**
V.	58 „	Vascul. Hypertonie	45,8	81,57	90,46	**70,40**	46,4	80,39	90,14	**69,76**

Aus der Tabelle I ergibt sich:

1. Das Blutkörperchenvolumen nimmt in allen Versuchen etwas zu.

2. Der Wassergehalt des Gesamtblutes nimmt in allen Versuchen etwas ab.

3. Der Wassergehalt des Serums nimmt entweder etwas ab oder bleibt nahezu unverändert.

4. Der Wassergehalt der Körperchen nimmt in den meisten Versuchen nicht unbeträchtlich ab, nur in 2 Versuchen findet sich eine leichte Zunahme.

Bekanntlich nimmt im venösen Stauungsblut die Zahl der Blutkörperchen zu. Die geringe Zunahme des Blutkörperchenvolumens in meinen Versuchen erklärt sich zum großen Teil durch Entquellung der Blutkörperchen.

Die Abnahme des Wassergehaltes des Gesamtblutes stimmt mit den Angaben der Literatur überein, ebenso auch die Konzentrationszunahme des Serums. Was den Wassergehalt der Blutkörperchen anbelangt, so findet, wie eben erwähnt, in 7 Fällen unter 9 eine Abnahme des Wassergehaltes, also eine Entquellung der Blutkörperchen statt.

Dieser Befund entspricht insofern nicht unserer Erwartung, als sich im venösen Stauungsblut eine höhere Kohlensäurespannung findet als im venösen Blut ohne Stauung und es bekannt ist, daß Erhöhung der Kohlensäurespannung zu einer Quellung der Blutkörperchen führt. Das gilt sicher für die Untersuchung in vitro. Ich verweise auf die Angaben von Limbeck, Gürber, Hamburger, Fridericia und vielen anderen. Obwohl dies als absolut sicherstehend zu betrachten ist, habe ich doch selbst eine Reihe einschlägiger Versuche angestellt, die sich in Tabelle II finden.

Tabelle II.

Name	Alter	Diagnose	Gesamtblut			Serum		Blutkörperch.		
			Blutkörp.-Vol.	H_2O	N	H_2O	N	H_2O	N	
Nr. 73	50 J.	Adipositas	50,0		3,23		1,14		5,32	
			50,0		3,23		1,14		5,32	
„ 73	50 „	„	52,0		3,10		1,10		4,96	nach CO_2-Einleitung
			52,0		3,10		1,10		4,96	1′
Nr. 72	60 „	Hypertonie	49,0		3,56		1,32		5,89	
			49,0		3,56		1,32		5,89	
„ 72	60 „	„	54,0		3,24		1,22		4,95	nach CO_2-Einleitung
			54,0		3,24		1,22		4,95	1′
Dr. O.	36 „	Anämie	31,0	75,27		88,08		**57,8**		
			31,0	76,12		88,35				
„	36 „	„	35,0	78,84		88,92		**64,74**		nach CO_2-Einleitung
			34,0	80,02		88,96				2′
Nr. 70	61 „	Hypertonie	45,0	78,58		88,06		**66,76**		
			45,0	78,86		88,80				
„ 70	61 „	„	49,0	79,21		89,66		**68,57**		nach CO_2-Einleitung
			49,0	99,47		89,81				1′
N. M.	49 „	„	46,0	80,46		90,14		**69,76**		
				80,32						
„	49 „	„	46,8	81,64		89,26		**72,22**		nach Einleitg. getr.
				81,07		89,14				Exspirationsluft
F. S.	26 „	Normal	40,0							
			40,0	78,56		90,74		**60,30**		
„	26 „	„	44,5							nach CO_2-Einleitung
			44,0	81,34		87,99		**72,88**		2′
W.	40 „	„	44,6	79,84		91,56		**65,77**		(arterielles Blut)
			44,0	79,40		91,74				
„	40 „	„	46,7	81,64		89,94		**73,80**		nach CO_2-Einleitung
			46,2	81,70		89,07				2′

Die Versuche ergaben eine Zunahme des Blutkörperchenvolumens, eine Zunahme des Wassergehaltes im Gesamtblut, eine Abnahme des

Stickstoffgehaltes im Gesamtblut. Im Serum bleibt der Wassergehalt entweder gleich oder er nimmt ab, der Stickstoffgehalt nimmt sehr wenig ab.

In den Körperchen findet sich regelmäßig eine deutliche Zunahme des Wassergehaltes und eine deutliche Abnahme des Stickstoffgehaltes.

Übereinstimmend mit den Versuchen in der Literatur findet demnach unter dem Einfluß der Einleitung von Kohlensäure in das Blut eine Quellung der Blutkörperchen statt.

Man hat diese in vitro gewonnenen Resultate auf die Verhältnisse in vivo übertragen und hat angenommen, daß beim Durchtritt des Blutes durch die Capillaren der Organe eine Quellung der Blutkörperchen in leichtem Grade auftritt. Es sollen dabei unter dem Einfluß der zunehmenden Kohlensäurespannung Chlorionen in die Blutkörperchen eintreten, während beim Durchfließen des Blutes durch die Lungen unter dem Einfluß der Arterialisierung des Blutes eine Rückwanderung von Chlorionen in das Plasma und eine Entquellung der Blutkörperchen vor sich gehen soll. Auf das Verhalten der Chlorionen will ich hier nicht näher eingehen, da dies in der aus dem hiesigen Laboratorium erscheinenden Arbeit von Dr. Muresanu geschehen wird.

Meine eigenen Untersuchungen über den Wassergehalt der Blutkörperchen sprechen jedenfalls dafür, daß man nicht berechtigt ist, die Ergebnisse der Untersuchungen in vitro auf die Verhältnisse in vivo zu übertragen und anzunehmen, daß Änderungen der Kohlensäurespannung beim Durchtritt des Blutes durch die Capillaren eine Verschiebung im Wassergehalt zwischen Blutkörperchen und Plasma hervorbringen, denn die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß die Verteilung des Wassers auf Körperchen und Plasma im arteriellen und im venösen Blut nahezu vollkommen gleich ist.

Tabelle III.

Vergleich des Wassergehaltes von arteriellem und venösem Blut. Blutentnahme ohne Stauung.

Name	Diagnose	Arterielles Blut				Venöses Blut			
		Blutkörp.-Vol.	H_2O Gesätt. Blut	H_2O Serum	H_2O Blutkörp.	Blutkörp.-Vol.	H_2O Gesätt. Blut	H_2O Serum	H_2O Blutkörp.
Dr. F. N. M.	Normal	46,8	79,14	90,35	66,41	48,0	78,45	89,84	66,12
Kaninchen		43,3	80,40	91,00	66,53	44,0	80,37	91,12	66,00

Die in der Literatur vorliegenden einschlägigen Untersuchungen beziehen sich nur auf den Eiweißgehalt bzw. Wassergehalt des Serums. Die Angaben sind hier schwankend.

Lehmann (1850) untersuchte das Pfortader, und das Lebervenenblut, in einer späteren Arbeit das Blut verschiedener Venen und fand, daß das Serum des venösen Blutes weniger Wasser, aber auch weniger Eiweiß enthält als das des arteriellen Blutes. — Flügge (1877)[1]) hingegen erhielt keine deutlichen Unterschiede beim Vergleich von arteriellem und venösem Blut, in bezug auf Wassergehalt und Aschenbestandteile. — Nasse konstatierte umgekehrt ein höheres spezifisches Gewicht des venösen Blutes. Diese einander widersprechenden Angaben fanden zum Teil durch die Untersuchungen von Cohnstein und Zuntz ihre Erklärung, die zeigten, daß in den vorhergehenden Versuchen zu kleine Tiere verwendet wurden und schon während der verhältnismäßig großen Aderlässe eine Veränderung der Blutzusammensetzung möglich ist. — Krüger untersuchte die bloßgelegten Venen und verwendete größere Tiere. — Wiener[2]) fand, daß im Serum des venösen Blutes bei normalen Tieren das Globulin oder die Globulinfraktion unter den Serum-Eiweißkörpern einen relativ größeren Anteil ausmacht als im arteriellen Blut. Von neueren Untersuchungen sind zu erwähnen die von Böhme[3]), Morawitz[4]), Schulz und Wagner[5]). — Alter und Schwänger haben in dem Capillar- und Venenblut die Serumwerte bestimmt und finden sie meist gleich. — Bojendorfer und Nonnenbuch[6]) zeigten ferner, daß zwar beträchtliche Unterschiede im Venen- und Capillarblut auftreten können (auch in den Erythrocyten), daß aber, wie Bogendorfer später zeigt, diese Unterschiede verschwinden, wenn man nach der Methode von Nägeli ein warmes Handbad der Blutentnahme vorausschickt.

Die neueren Untersuchungen stimmen also mit den meinigen darin überein, daß zwischen dem Capillar- bzw. arteriellen und venösen Blut ohne Stauung kein wesentlicher Unterschied in bezug auf die Verteilung des Wassers zwischen Körperchen und Plasma besteht.

Hingegen ergibt, wie wir gesehen haben, der Vergleich zwischen ungestautem und gestautem venösen Blut einen Unterschied im Wassergehalt des Gesamtblutes wie auch einen Unterschied in der Verteilung des Wassers auf Körperchen und Plasma. Was die übrigen Bestandteile des Blutes anbelangt, so möchte ich nur erwähnen, daß nach Untersuchungen von W. Falta und M. Richter - Quittner ein wesentlicher Unterschied im Gehalt und in der Verteilung von Chlor, Zucker und Rest-N-Körpern zwischen gestautem und nichtgestautem venösen Blut sich nicht findet. Hingegen zeigte sich, in noch nicht veröffentlichten Untersuchungen des hiesigen Laboratoriums, daß im gestauten venösen Blut weniger Kalium und weniger Gesamtaschebestandteile sich finden als im ungestauten venösen Blut, Veränderungen, die mit dem Wassergehalt parallel gehen.

Eine Erklärung für die bei der Stauung eintretenden Veränderungen vermag ich nicht zu geben. Eine Mitteilung dieser Versuche erschien

[1]) Zeitschr. f. Biol. **13**.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **82**, 243. 1912.
[3]) Dtsch. Arch. f. klin. Med. **103**, 522.
[4]) Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 1.
[5]) Folia Serologica Physiol. Teil **3**, H. 9. 1909.
[6]) Dtsch. Arch. f. klin. Med. **133**, 389. 1920.

mir aber deshalb gerechtfertigt, weil sie zeigen, daß die Bestimmungen des Serums allein nicht ausreichen und daß man sich bei der Bestimmung des Wassergehaltes nur ungestauten Blutes bedienen darf.

Zusammenfassung.

1. Es besteht kein wesentlicher Unterschied im Wassergehalt bzw. in der Verteilung des Wassers auf Blutkörperchen und Plasma zwischen arteriellem und ungestautem venösem Blut.

2. Bei der Stauung kommt es zu einer Eindickung des Blutes und in den meisten Fällen zu einer Entquellung der Blutkörperchen.

Zur Methodik der chemischen Blutanalyse. III.

Die Bedeutung der Ultrafiltrationsmethode für die Blutanalytik.

Von

M. Richter-Quittner.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitales in Wien.)

(Eingegangen am 6. August 1921.)

In einer früheren Mitteilung habe ich mich bemüht zu zeigen, daß die Enteiweißungsmethoden das wichtigste und zugleich schwierigste Kapitel der ganzen Blutanalytik sind.

Eine richtige Enteiweißung ist die selbstverständliche Voraussetzung einer jeden richtigen Blutanalyse.

Nun hat Bechhold bereits im Jahre 1907 gezeigt, daß es mit Hilfe seiner Gallert- oder Ultrafiltrationsmethode möglich ist, Kolloide quantitativ von ihrem Dispersionsmittel zu trennen. Bechhold arbeitete mit 4% Eisessigcollodiumfiltern, deren Porendurchmesser kleiner als 20 $\mu\mu$ war, mit einem Überdruck von 0,4 Atmosphären. Er zeigte, daß sich mit diesen Filtern in 1 proz. wässerigen Hämoglobinlösungen, Serumalbumin — Serumglobulin — Albumoselösungen usw. diese Substanzen quantitativ von ihrem Lösungsmittel trennen lassen, während Elektrolyte und Nichtelektrolyte das Filter passieren. Es war daher von vornherein sehr wahrscheinlich, daß sich die Ultrafiltrationsmethode von Bechhold in der Blutanalytik, wo es doch auf die Trennung von Kolloiden von Molekulardispersoiden ankommt, ausgezeichnete Dienste leisten muß, und es erscheint mir unverständlich, warum die Ultrafiltrationsmethode bisher in der Blutchemie keine Anwendung gefunden hat.

Bei jeder Ultrafiltration muß nach Ostwald unterschieden werden zwischen der Trennung von disperser Phase und Dispersionsmittel und einer darüber hinausgehenden Desolvatation oder Entquellung der dispersen Phase. Man muß also bei der Ultrafiltration außer der Arbeit, die der osmotischen entspricht, noch wie Ostwald sagt, eine Zusatzarbeit leisten, um die Entquellung der dispersen Phase zu erreichen. Es ist daher von diesem Gesichtspunkt aus wohl verständlich, daß es

den verschiedenen Forschern bisher nicht gelungen ist, durch Anwendung sehr großer Drucke (Über- oder Unterdrucke) eine Beschleunigung der Ultrafiltrationsgeschwindigkeit zu erreichen. Wir können hingegen, wie ich schon in einer anderen Mitteilung gezeigt habe, die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit durch solche Mittel beschleunigen, welche zu einer Entquellung der dispersen Phase führen, also durch Zusatz von Zucker, Harnstoff oder irgend eines Kalisalzes.

I. Anwendung der Ultrafiltration für Reststickstoffbestimmungen.

In Übereinstimmung mit früheren, bereits publizierten Untersuchungen zeigen die Versuche der Tabelle Nr. I, daß die Ultrafiltration für Reststickstoffbestimmungen sehr geeignet ist. Ultrafiltrations- und Trichloressigsäuremethode geben vollkommen identische Werte. Die Ultrafiltrationsmethode hat aber vor allen Enteiweißungsmethoden den Vorzug der großen Einfachheit.

Tabelle I.
Reststickstoffbestimmungen mittels Ultrafiltration.

Datum	Name	Diagnose	Bezeichnung	mg Rest N in 100 ccm	
				Ultrafiltration	Enteiweißung mit Trichloressigsäure
9. VI. 21	Johann L.	Nephritis	Serum	150,14	150,62
11. VI. 21	Ruff.	Leukämie	„	40,62	41,07
13. VI. 21	Rosa G.	Nephritis	„	220,46	220,89
17. VI. 21	Wenzel Pl.	„	Gesamtblut	56,00	55,47
17. VI. 21	Antonie G.	„	Serum	120,46	120,74
18. VI. 21	Franz He.	„	„	96,23	96,84
1. VII. 21	Be.	„	„	112,49	113,28
1. VII. 21	Ernst Z.	„	„	196,45	195,23
1. VII. 21	Rich.	„	„	110,42	110,62
12. VII. 21	Rosen	Hypertonie	Gesamtblut	45,39	45,98
23. VII. 21	Sch.	Addison	Serum	46,39	46,42
23. VII. 21	Bi.	Nephritis	„	75,34	75,28

Methodik.

5 ccm Blut, Plasma oder Serum werden mit einer 1 proz. Kaliumchloridlösung auf ca. 100 ccm verdünnt und mit Hilfe des Apparates von Zsygmondy-Haen ultrafiltriert, was ca. 3 Stunden Zeit erfordert. Man wäscht mit einer 1 proz. Kaliumchloridlösung nach und bestimmt im eingeengten Filtrat den Stickstoff nach Kjeldahl, Pregl oder mittels Nesslerisation. Diese Methode ist meiner Ansicht nach allen anderen Reststickstoffbestimmungen an Einfachheit und Bequemlichkeit überlegen. Die Versuche der Tabelle Nr. I zeigen auch in Übereinstimmung mit Stefan Rusnyak, daß die Reststickstoffkörper des Blutes frei gelöst und nicht in kolloidaler Form vorhanden sind.

II. Anwendung der Ultrafiltration für colorimetrische Harnsäurebestimmungen.

Die Methodik ist der obenbeschriebenen analog. Im vollkommen eiweißfreien, wasserklaren Ultrafiltrat wird die Harnsäure colorimetrisch in der gewöhnlichen Weise bestimmt. Die Ultrafiltration hat hier den großen Vorteil, das wir für die Ultrafiltration keinerlei Chemikalien zusetzen müssen (an Stelle von KCl kann hier mit Wasser verdünnt werden), die oft die colorimetrische Bestimmung sehr stören können. Die Versuche der Tabelle Nr. II zeigen in 4 Versuchen die vollkommene Übereinstimmung der Ultrafiltrations- und Enteiweißungsmethode, während in 2 Versuchen die Übereinstimmung ungenügend ist.

Tabelle II.
Colorimetrische Bestimmung der Harnsäure in Ultrafiltraten.

Datum	Name	Diagnose	Bezeichnung	mg Harnsäure in 100 ccm	
				Enteiweißung	Ultrafiltration
5. VI. 21	R.	Normal	Plasma	4,44	4,36
13. VI. 21	Bl.	„	„	4,28	4,14
30. VI. 21	Franz Fr.	Hypertonie	„	10,48	10,16
12. VII. 21	Ros.	„	Serum	8,24	8,30
18. VII. 21	Karl B.	Nephritis	„	6,24	5,72
21. VII. 21	Franz T.	„	„	4,67	3,99

III. Anwendung der Ultrafiltration für Chlorbestimmungen.

Die Versuche der Tabelle Nr. III zeigen im Gegensatz zu den Angaben von Stefan Rusnyak, daß es sehr gut möglich ist, das ganze Chlor des Serums in das Ultrafiltrat hinein zu bekommen, wenn man den Filterrückstand gründlich mit Wasser auswäscht. Rusnyak arbeitet mit dem Apparat von Bechhold und beobachtet regelmäßig eine Anreicherung von Chlor im Filterrückstand des Ultrafiltrates. Meine Versuche zeigen zwar, daß die Ultrafiltrationsmethode mit der Veraschungsmethode von Koranyi vollkommen übereinstimmt, nichts-

Tabelle III.
Chlorbestimmungen in Ultrafiltraten.

Datum	Name	Bezeichnung	g Chlor in 100 ccm	
			Veraschung nach Koranyi	Ultrafiltration
10. III. 21	Mem.	Gesamtblut	0,220	0,220
8. IV. 21	Marie Ed.	„	0,223	0,220
2. VI. 21	P.	„	0,206	0,200
6. VII. 21	Tet.	Serum	0,284	0,274
19. VII. 21	Sif.	„	0,339	0,339
19. VII. 21	L.	„	0,360	0,360

destoweniger würde ich doch der Methode von Koranyi den Vorzug geben, da die Veraschung wesentlich weniger Zeit in Anspruch nimmt als die Ultrafiltration. Wir vertreten nach wie vor die Ansicht, daß die Methode von Koranyi die beste Methode und neben der Ultrafiltrationsmethode die einzig brauchbare Methode für die Bestimmung der Chloride ist. Die Versuche zeigen auch in Übereinstimmung mit früheren, von uns gemachten Beobachtungen, daß das Chlor in frei gelöster Form und nicht in kolloidaler Bindung im Blute kreist.

IV. Die Anwendung der Ultrafiltration für die Natriumbestimmung.

Jeder, der sich mit dem Studium der Mineralbestandteile des Blutes befaßt, weiß, daß die Natrium- und Kaliumbestimmung zu den schwierigsten und langwierigsten Analysen gehören. Da aber gerade dem Natrium und Kalium im Mineralstoffwechsel eine besondere Bedeutung zuzukommen scheint, war ich seit Jahren bemüht, die Methode zu vereinfachen und zu verbessern. Die gegenwärtig gebräuchlichen Natrium- und Kaliummethoden weisen meiner Ansicht nach zwei große Mängel auf:

1. Die indirekte Methode von Schlösing und Wense garantiert nicht die erforderliche Genauigkeit, da der ganze Analysenfehler sich auf das Natrium errechnet;

2. ist die trockene Veraschung von Blut, Plasma oder Serum technisch so schwierig, daß Fehler, hauptsächlich Substanzverluste beim Glühen fast unvermeidlich sind.

Tabelle IV.
Natriumbestimmungen in Ultrafiltraten.

Datum	Name	Diagnose	Bezeichnung	g Natrium in 100 ccm		Differenz
				Veraschung	Ultrafiltrat.	
2. VI. 21	Uhls.	Nephritis	Serum	0,170	0,170	0
10. VI. 21	Milan W.	Epilepsie	Gesamtblut	0,290	0,296	0
10. VI. 21	Milan W.	„	Serum	0,430	0,430	0
10. VI. 21	Jell.	Adipositas	„	0,364	0,362	0,002
15. VI. 21	Ruff.	Leukämie	„	0,459	0,468	0,009
7. VII. 21	Rok.	Normal	„	0,560 0,560	0,556 0,560	0,0002
20. VII. 21	Jakob L.	Tabes	Gesamtblut	0,202 0,202	0,200	0,002
20. VII. 21	Jakob L.	„	Serum	0,362	0,358	0,004

Beide Mängel lassen sich auf die einfachste Weise beheben. Es ist mir gelungen, eine direkte Methode der Natriumbestimmung auszuarbeiten, die ich demnächst an anderer Stelle angeben werde. An Stelle der äußerst mühsamen Veraschung verwende ich wieder die Ultrafiltration zur Entfernung der Eiweißkörper. Die Versuche der Tabelle Nr. IV

zeigen, daß kein Natrium an Eiweiß gebunden ist. Veraschungs- und Ultrafiltrationsmethode sind also von biologischen Gesichtspunkten aus gleichwertig.

Die Ultrafiltrationsmethode bedeutet für Natriumbestimmungen im Blute eine wesentliche Erleichterung und Vereinfachung, unter Umständen einen Zeitgewinn von vielen Tagen. Ich hoffe, daß es mit Hilfe dieser Methode nun möglich sein wird, die spezifische Rolle, die dem Natrium im Mineralstoffwechsel zukommt, besser zu studieren als dies bis nun geschehen konnte.

V. Anwendung der Ultrafiltration für die Bestimmung des freien Kaliums.

Die Versuche der Tabelle Nr. V zeigen in Übereinstimmung mit den Beobachtungen anderer Autoren, daß ein nicht unbeträchtlicher Teil des im Blute vorhandenen Kaliums an Eiweiß gebunden ist. Es erscheint mir im höchsten Grade wahrscheinlich, daß den Kaliumionen eine andere Bedeutung zukommt als dem an das Eiweiß gebundenem Kalium. Am Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe einerseits, zwischen Blutkörperchen und Plasma andererseits, werden sich wohl in erster Linie nur die freien Kaliumionen beteiligen. Es hat daher den Anschein, daß der Ultrafiltrationsmethode für die Kaliumbestimmung von biologischen Gesichtspunkten aus einige Bedeutung zukommt. Es wäre daher wünschenswert, wenn neben dem Gesamtkalium auch das freie Kalium bestimmt würde.

Tabelle V.

Kaliumbestimmungen in Ultrafiltraten.

Datum	Name	Diagnose	Bezeichnung	mg Kalium in 100 ccm		Differenz
				Veraschung	Ultrafiltrat.	
18. VI. 21	Wes.	Hypertonie	Gesamtblut	60,29 60,74	30,46 30,17	30,22
18. VI. 21	Wes.	„	Serum	70,34 70,26	30,87 30,92	39,40
7. VII. 21	Rok.	Normal	„	72,0 74,4	54,0 56,0	18,0
26. VII. 21	Margarete M.		„	80,42	60,39	20,03
27. VII. 21	Funk		„	50,39 50,14	20,68 20,14	29,85
20. VI. 21	Jakob L.	Tabes	Gesamtblut	70,34 70,02	50,62	19,56
20. VI. 21	Jakob L.	„	Serum	80,39 80,45	50,62 50,07	30,07

VI. Die Bestimmung der freien Calciumionenkonzentration in Ultrafiltraten.

Bekanntlich kommt das Calcium im Blute in 3 Formen vor: An Eiweiß gebunden, als nichtdissoziiertes Calciumsalz und als Calciumion. Wie ich schon an anderer Stelle in Übereinstimmung mit Brinkmann

betont habe, dürften auch den freien Calciumionen eine besondere Rolle zufallen. Ich habe nach der von Brinkmann und van Dam ausgearbeiteten Methode eine größere Anzahl derartiger Bestimmungen vorgenommen und führe einige Beispiele in Tabelle Nr. VI an. Diese Bestimmungen können nur in Ultrafiltraten ausgeführt werden, da jedweder Zusatz, zwecks Entfernung der Eiweißkörper, die Reaktion stört.

Es zeigt sich in Übereinstimmung mit Brinkmann und van Dam, daß die [Ca¨] unter physiologischen Bedingungen außerordentlich konstant ist, woraus schon die große Bedeutung dieser Methode für die Physiologie und Pathologie hervorgeht.

Tabelle VI.

Bestimmung der Calciumionenkonzentration in Ultrafiltraten menschlicher Sera nach der Methode von Brinkman und van Dam.

Datum	Name	Diagnose	mg Ca im ultrafiltrierten Serum
18. III 21	Rob.	Normal	2,56
			2,56
14. IV. 21	S.	„	2,22
7. VI. 21	Li.	„	2,22
7. VII. 21	R.	„	2,22
			2,22
20. VII. 21	Jakob Lill	Tabes	2,22
11. VI. 21	Ruff	Leukämie	3,44
22. IV. 21	P.	Urämie	3,20
			3,20
3. V. 21	Adele R.	Ekzem	3,27
2. VI. 21	P.	Hypertonie	2,29

VII. Zuckerbestimmungen in Ultrafiltraten.

Die Versuche der Tabellen Nr. VII und VIII zeigen in Übereinstimmung mit Stefan Rusnyak, daß es nicht möglich ist, den gesamten, im Blute vorhandenen, Zucker in das Ultrafiltrat überzuführen. In der Mehrzahl der Fälle ist der Zuckerwert des Ultrafiltrates kleiner als der des ursprünglichen Gesamtblutes oder Plasmas resp. Serums. Hierfür können verschiedene Gründe maßgebend sein.

1. Wäre es, wie Rusnyak meint, denkbar, daß ein Teil des Blutzuckers in kolloidaler Form vorhanden ist und daher das Ultrafilter nicht passiert. Gegen diese Annahme sprechen die ersten 5 Versuche der Tabelle VII, im Sinne dieser Annahme die Versuche der Tabelle VIII, doch scheint es mir, daß diese Versuche noch nicht geeignet sind, diese wichtige Frage zu einem Abschluß zu bringen.

2. Es ist sehr gut möglich, daß ein Teil des Zuckers während der Ultrafiltration, die ja immerhin einige Stunden Zeit in Anspruch nimmt, oxydiert wird und daher dem Nachweis entgeht.

3. Könnte man auch an eine Adsorption des Zuckers an das Filter denken.

Tabelle VII.
Zuckerbestimmungen in Ultrafiltraten.

Datum	Name	Diagnose	Bezeichnung	mg Zucker in 100 ccm nach Hagedorn		Differenz
				Enteiweißung nach Bang	Enteiweißung mitt. Ultrafiltr.	
7. I. 21	W.	—	Gesamtblut	74,29	75,02	0
11. I. 21	Ernestine H.	—	„	82,74	82,64	0
14. I 21	Wi.	—	„	80,74	80,23	0
18. I. 21	Th.	—	„	74,68	75,06	0
28. I. 21	Rob.	Ekzem	„	84,60	80,29	4,31
18. IV. 21	Marie Ed.	—	„	92,56	71,32	21,17
4. II. 21	Wei	Hypertonie	„	90,68 90,14	70,56	19,85
21. IV. 21	Born.	Diabetes mell.	Serum	230,46	220,57	9,89
28. IV. 21	Kell.	„	„	470,00	254,00	216,00

Ob dieser Differenz zwischen Enteiweißung und Ultrafiltrationsmethode irgendeine biologische Bedeutung zukommt, kann ich heute noch nicht entscheiden. So lange diese Frage nicht geklärt ist, kann vorläufig die Ultrafiltrationsmethode für Blutzuckerbestimmungen nicht angewendet werden.

VIII. Andere Anwendungsmöglichkeiten der Ultrafiltrationsmethode.

Es ist selbstverständlich, daß mit den angeführten Beispielen das große Anwendungsbereich der Ultrafiltrationsmethode noch keineswegs erschöpft ist und es ist zu hoffen, daß die Ultrafiltrationsmethode noch ganz neue Gebiete der Blutchemie erschließen wird. Ich möchte hier nur erwähnen, daß es mittels Ultrafiltration möglich ist, die organischen und anorganischen Phosphorverbindungen des Blutes zu trennen (über diese Methode werde ich demnächst berichten).

Der colorimetrische Bilirubinnachweis gelingt im ultrafiltrierten Serum ohne Schwierigkeiten. Die Methode von Brinkmann und van Dam zur Bestimmung der Calciumionenkonzentration, welche, wie bereits erwähnt, nur in Ultrafiltraten ausführbar ist, gestattet auch eine sehr exakte Bestimmung der freien HCO_3-Ionenkonzentration usw.

Tabelle VIII.
Zuckerbestimmungen im Gesamtblut und Serum.

Datum	Name	Diagnose	mg Zucker im Gesamtblut			mg Zucker i. Serum		Blutkörperchen	
			Blutkörp.-Volumen	Enteiweißung	Ultrafiltration	Enteiweißung	Ultrafiltration	Enteiweißung	Ultrafiltrat.
2. VI. 21		Hypertonie	45,0 45,0	160,54 160,72	100,29 100,46	294,40	180,39 180,92	0	0
7. VI. 21	L.	„	49,0	83,47	65,94	163,29	128,62	0	0
14. VI. 21	O. F.	„	40,0	120,64	98,47	200,00	168,00	0	0

Diese Untersuchungen wurden von Herrn Dr. Muresanu in unserem Laboratorium ausgeführt.

IX. Vorteile der Ultrafiltrationsmethode.

1. Die Ultrafiltrationsmethode ersetzt in allen Fällen mit Ausnahme der Blutzuckerbestimmung die gebräuchlichen Enteiweißungsmethoden mit dem Vorteil der Ersparung von Zeit und Chemikalien.

2. Die Ultrafiltrationsmethode ist technisch viel leichter als alle Enteiweißungsmethoden, was für chemisch weniger geschulte Ärzte einen großen Vorteil bedeutet.

3. Die Ultrafiltrationsmethode hat aber ein viel größeres Anwendungsbereich als die Enteiweißungsmethoden. Sie gestattet die Bestimmung der freien Ionen und der an Eiweiß gebundenen Kationen.

4. Sie ermöglicht eine Enteiweißung ohne Zusatz von Chemikalien.

Literatur.

[1]) Brinkmann und E. van Dam, Proceedings **22**, 1. 1919. — [1a]) Bechhold, H., Kolloid-Zeitschr. **3**, 226. 1908. — [2]) Bechhold, H., diese Zeitschr. **6**, 379. 1907. — [3]) Bechhold, H., Zeitschr. f. physikal. Chemie **60**, 257. 1907. — [4]) Bechhold, H., Zeitschr. f. physikal. Chemie **64**, 328. 1908. — [5]) Fresenius, R., Zeitschr. f. analyt. Chemie **51**, 484. 1912. — [6]) Knaffl-Lenz, E., Kolloid-Zeitschr. **27**, 315. 1920. — [7]) Mannich, C. und Grete Wipperling, Ber. d. ges. Phys. **4**, 19. 1920. — [8]) Ostwald, Wo., Kolloid-Zeitschr. **22**, 143. 1918. — [9]) Ostwald, Wo., Kolloid-Ztschr. **23**, 68. 1918. — [10]) Richter-Quittner, M., diese Zeitschr. **95**, 179. 1919. — [11]) Richter-Quittner, M. und H. Hoenlinger, Wien. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 3. — [12]) Rusnyak, Stefan und Geza Hetenyi, diese Zeitschr. **113**, 56. 1921. — [13]) Zsygmondy, R. und W. Bachmann, Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chem. **103**, 1. 1918. — [14]) Zsygmondy, R., Zeitschr. f. angew. Chemie **26**, 447. 1913.

Über die Verteilung des Chlors auf Blutkörperchen und Plasma bzw. Serum.

Von

Augustin Muresanu (Klausenburg).

(Aus der 3. medizinischen Abteilung und dem chemischen Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitals in Wien.)

(Eingegangen am 6. August 1921.)

Bis vor wenigen Jahren wurde allgemein angenommen, daß das Chlor ziemlich gleichmäßig auf Körperchen und Plasma verteilt sei. Diese Annahme schien schon deshalb viel für sich zu haben, weil Natrium und Chlor ca. 70% der im Blut enthaltenen Mineralbestandteile ausmachen und eine gleichmäßige Verteilung des Chlors die Vorstellung, wie das physiologische Gleichgewicht zwischen Körperchen und Plasma aufrechterhalten wird, sehr erleichterte. Im Jahre 1919 haben nun W. Falta und M. Richter-Quittner auf Grund ihres großen Beobachtungsmaterials gezeigt, daß nicht nur beim Menschen, sondern auch bei allen untersuchten Tierarten die Blutkörperchen frei von Chlor sind oder höchstens Spuren enthalten, sie bedienten sich der indirekten Methodik der Chlorbestimmung der Blutkörperchen, wobei folgender Vorgang eingehalten wurde. Es wurde das Chlor im Gesamtblut bestimmt, ferner im Plasma oder Serum, ferner wurde mittels des Hämatokriten das Blutkörperchenvolumen ermittelt und aus diesen 3 Werten der Chlorgehalt der Blutkörperchen berechnet.

Gegen das Resultat dieser Untersuchungen wurde von E. K. Warburg und neuerdings von Wichmann Stellung genommen. Auch Siebeck hat andere Resultate erhalten. Dies war Veranlassung, daß ich mich mit dieser Frage beschäftigte.

Zunächst einige Bemerkungen über die Methodik.

Methodik.

Für die Untersuchungen wurde venöses Blut verwendet, das durch Venaepunctio oder Venasectio gewonnen wurde. Das Blut wurde entweder mit Natriumcitrat (1 g auf 100 ccm) ungerinnbar gemacht oder durch Schütteln mit Glasperlen in verschlossenen Pulvergläsern defibriniert. Zwecks Plasmagewinnung wurde das Blut sofort in verschlossenen Gefäßen zentrifugiert. Die Bestimmungen wurden teils im Natriumcitratplasma, teils im durch Zentrifugieren gewonnenen

Serum des defibrinierten Blutes, teils im spontan geronnenen Serum ausgeführt. Die erhaltenen Werte sind in allen 3 Fällen vollkommen identisch. Das Blutkörperchenvolumen wurde mittels des Hämatokriten bestimmt. Es wurden alle Kautelen beobachtet, die im hiesigen Laboratorium seit Jahren in Gebrauch sind. Natriumcitratblut und defibriniertes Blut ergaben in Übereinstimmung mit Hamburger und Ege nahezu identische Werte. Das Blutkörperchenvolumen des Natriumcitratblutes ist um ca. 2% größer, als das des defibrinierten Blutes, da der Zusatz von Natriumcitrat, auch in so kleinen Mengen, augenscheinlich eine leichte Quellung der Blutkörperchen bewirkt. Die Bestimmung der Chloride erfolgte mittels der altbewährten Methode von Koranyi (durch feuchte Veraschung mit chlorfreier Salpetersäure und Kaliumpermanganat in der Hitze). Der Chlorgehalt der Blutkörperchen wurde berechnet aus dem mittels des Hämatokriten gefundenen Blutkörperchenvolumens und aus den Chlorzahlen für das Gesamtblut und das Serum, bzw. Plasma. In 2 Fällen der Tabelle II wurde nach den Angaben von Siebeck der Chlorgehalt des gut abzentrifugierten Blutkörperchenbreies direkt bestimmt und der restierende Serumgehalt des Blutkörperchenbreies nach den Angaben von Siebeck wie folgt ermittelt:

5 ccm Blutkörperchenbrei werden mit 10 ccm 0,9 proz. NaCl-Lösung gemischt und zentrifugiert. Der Stickstoff der abpipetierten Serumlösung sei b, der des 10fach verdünnten Serum a. In 5 ccm Blutkörperchenbrei befinden sich X ccm Serum. X ist daher $\frac{10\frac{b}{a}}{10-\frac{b}{a}} = \frac{10b}{10a-b}$.

Meine Untersuchungen an 7 nierengesunden Menschen ergaben, daß die Blutkörperchen in allen Fällen frei von Chlor sind, denn die geringen Spuren, welche gefunden wurden, liegen innerhalb der Fehlergrenzen der Methode.

Tabelle I.
Chlorbestimmungen bei Nierengesunden.

Datum	Name	Diagnose	Blutkörperch.-Volumen	Chlor (Natriumchlorid)			Bemerkungen
				Gesamtblut	Serum	Blutkörp. berechnet	
17. V. 21	K. G.	Ulcus ventriculi	44,6 44,8	0,183 (0,303)	0,327 (0,540)	0,003 (0,006)	Venöses Stauungsblut
30. V. 21	M. H.	Normal	45,0 45,0	0,230 (0,380)	0,418 (0,690)	0,0006 (0,001)	Desgl.
2. VI. 21	P.	Vasculäre Hypertonie	45,0 45,0	0,206 (0,340)	0,375 (0,620)	−0,001 −(0,002)	Desgl.
7. VI. 21	L.	Desgl.	49,0 49,0	0,206 (0,340)	0,400 (0,660)	0,005 (0,008)	Desgl.
10. VI. 21	M.W.	Epilepsie	35,0 35,0	0,288 (0,475)	0,442 (0,730)	0,002 (0,003)	Desgl.
24. VI. 21	F.	Vasculäre Hypertonie	46,2 46,2	0,182 (0,300)	0,339 (0,560)	−0,001 −(0,002)	Desgl.
20. VI. 21	W.	Desgl.	46,5 46,5	0,194 (0,320)	0,364 (0,600)	−0,001 −(0,002)	Arterielles Blut

Unsere Versuche stimmen auch mit denen von Siebeck nicht überein. Siebeck hat den Chlorgehalt der Blutkörperchen dadurch zu ermitteln

versucht, daß er den Chlorgehalt des Gesamtblutes, des Serums und des nach dem Zentrifugieren erhaltenen Blutkörperchenbreies bestimmte. Durch das oben beschriebene Verfahren ermittelte er nun, wieviel Serum noch in den Blutkörperchen enthalten ist und berechnete daraus den Chlorgehalt der Blutkörperchen. Ich habe dieses Verfahren nachgemacht und finde auch nach diesem Verfahren nur Spuren von Chlor in den Blutkörperchen. Ich möchte aber betonen, daß derartige Versuche keinen Anspruch auf große Genauigkeit machen können, da es mir nicht möglich erscheint, den Blutkörperchenbrei (wegen der großen inneren Reibung der Blutkörperchen) genau abzumessen.

Tabelle II.

Chlorbestimmungen (Versuche nach Siebeck).

Datum	Name	Diagnose	Blutkörperchenvolumen	Chlor			Blutkörperchenbrei				Bemerkung
				Gesamtblut	Serum	Blutkörperch. berechnet	Serumgehalt nach Siebeck	Chlor bestimmt	Chlor auf Serum berechnet	Chlor auf Blutkörp. berechnet	
7. VI. 21	L.	Vasculäre Hypertonie	49,0 49,0	0,206	0,400	0,005	28,40	0,123	0,114	0,009	a = 0,1 b = 0,1
10. VI. 21	M.W.	Epilepsie	35,0 35,0	0,288	0,442	0,002	26,6	0,121	0,118	0,003	a = 0,14 b = 0,1

Übereinstimmend zeigen also diese Versuche, daß die Blutkörperchen nahezu frei von Chlor sind.

Die Frage, warum die anderen Autoren zu anderen Resultaten kommen, kann ich nicht beantworten. W. Falta und M. Richter-Quittner hatten ursprünglich geglaubt, daß bei Verwendung von Natriumfluorid die Blutkörperchen so geschädigt würden, daß Chlor in dieselben eindringt. Das ist in gewissem Sinne auch richtig. Es hat aber doch nicht jene Bedeutung, wie ursprünglich angenommen wurde. Es müßte auch untersucht werden, ob die jetzt so allgemein verwendeten Mikromethoden, besonders im Gesamtblut, zur Lösung dieser Frage genügend genau sind.

W. Falta und M. Richter-Quittner hatten angegeben, daß unter pathologischen Verhältnissen die Blutkörperchen nicht immer frei von Chlor sind, sondern daß sich dann beträchtliche Mengen von Chlor in den Blutkörperchen befinden können. Ich habe auch einige Fälle mit Niereninsuffizienz untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle III zusammengestellt. Aus dieser Tabelle ergibt sich, daß in Fällen von Niereninsuffizienz oft beträchtliche Mengen von Chlor in den Blutkörperchen des strömenden Blutes vorhanden sein können.

In der Literatur findet sich ganz allgemein eine Theorie verbreitet, nach welcher die Wanderung von Chlorionen in und aus den Blutkörper-

Tabelle III.
Chlorbestimmungen bei Kranken mit insuffizienten Nieren.

Datum	Name	Diagnose	Blutkörperch.-Volumen	Chlor (Natriumchlorid) Gesamtblut	Serum	Blutkörp. berechnet	Bemerkungen
27. V. 21	E. P.	Nephritis	45,0 45,0	0,290 (0,480)	0,387 (0,640)	0,172 (0,284)	Serum stark hämolytisch
1. VI. 21	G. S.	Vasc.Hypert., renale Form	49,5 49,5	0,194 (0,320)	0,363 (0,600)	0,021 0,034	Serum klar
2. VI. 21	U.	Nephritis	39,0 39,0	0,254 (0,420)	0,351 (0,580)	0,103 (0,169)	"
27. VI. 21	R.	"	40,0 40,0	0,255 (0,420)	0,339 (0,560)	0,127 (0,210)	"

chen für die Aufrechterhaltung der Reaktion des Blutes und für den Transport der Kohlensäure und für die Gewebeatmung eine große Rolle spielt. Gürber, Limbeck, Nasse, Hamburger, de Boer und in neuester Zeit besonders Fridericia hatten gefunden, daß bei Einleiten von Kohlensäure in Vollblut in vitro die Blutkörperchen quellen, das Plasma konzentrierter wird und Chlorionen in die Körperchen einwandern. Dieser Vorgang soll reversibel sein.

Fridericia schüttelte das Blut mit Luft von verschiedener Kohlensäurespannung und zeigte, daß desto mehr Chlorionen in die Blutkörperchen einwandern, je höher die Kohlensäurespannung der verwendeten Luft ist. Auf Grund aller dieser Untersuchungen wurde die Hypothese aufgestellt, daß beim Durchströmen des Blutes durch die Gewebe, unter der Massenwirkung der Kohlensäure Anionen, speziell Chlorionen vom Plasma in die Körperchen einwandern, gleichzeitig eine äquivalente Menge anderer Anionen, besonders OH-Ionen von den Körperchen in das Plasma dringen, wodurch ein Teil des Natriumchlorids des Plasmas in NaOH verwandelt wird, welches mit einem Teil der freien Kohlensäure Bicarbonat bilden kann. Beim Durchströmen des Blutes durch die Lungen findet der entgegengesetzte Prozeß statt.

Diese Anschauung wäre auch wichtig für die Praxis der Blutuntersuchung, denn Fridericia folgert ganz richtig, daß die Bestimmung des Chlors im Blutplasma oder Blutserum, das aus Blut, das offen gestanden ist, gewonnen wurde, viel höhere Werte ergeben müsse, als ihm im strömenden Blut zukomme, da unter der verminderten Kohlensäurespannung Chlor aus den Körperchen in das Plasma übertrete. Es müßte also der Chlorgehalt des Serums bzw. des Plasmas ganz verschieden sein, je nachdem man das Plasma oder Serum langsamer oder schneller gewinnt und dadurch mehr oder weniger Kohlensäure aus dem Blute entweicht. Da fast alle in der Literatur vorliegenden Chlorbestimmungen in Serum angestellt wurden, das nicht unter entsprechenden Kautelen gewonnen worden ist, so würde die Genauigkeit aller dieser Unter-

suchungen vom biologischen Standpunkt aus in Frage gestellt. Daß man nun durch Einleiten von Kohlensäure in das Blut tatsächlich eine Quellung der Blutkörperchen und ein Eindringen von Chlor erhält, konnte auch ich in einigen Versuchen, die ich hier nicht anführe, zeigen.

Meine Beobachtungen sind nicht zahlreich genug, um hier ein abschließendes Urteil zu geben, doch ist wohl sehr mit der Möglichkeit zu rechnen, daß, wie schon Overton bei einer Kritik der Versuche von Hamburger betonte, beim Einleiten von Kohlensäure in das Blut oder bei längerem Schütteln desselben mit Luft von hoher Kohlensäurespannung, durch die Kohlensäure die Permaebilität der Blutkörperchen geändert, die Körperchen geschädigt und für Chlorionen durchgängig gemacht werden.

Diese wichtigen Fragen scheinen jedenfalls noch einer sorgfältigen Bearbeitung zu bedürfen. Gegen die Bedeutung, welche man der Wanderung der Chlorionen in bezug auf die Gewebe zugesprochen hat, spricht bereits vielerlei. 1. Daß bei normalen Individuen die Blutkörperchen sowohl im arteriellen wie auch venösen Blut chlorfrei gefunden wurden, ferner der Umstand, daß, wie Aiello in einer aus dem hiesigen Laboratorium stammenden Arbeit zeigt, der Wassergehalt der Blutkörperchen des venösen Blutes sich von dem der Körperchen des arteriellen Blutes nicht wesentlich unterscheidet und daß bei der venösen Stauung die Blutkörperchen nicht quellen, sondern meist entquellen und endlich die genaue Übereinstimmung in den Chlorwerten (mittels Veraschungsmethoden gewonnen) des Plasmas und Serums, obwohl bei beiden die Kohlensäurespannungsverhältnisse nicht gleich sein können.

Literatur.

De Boer, Journ. of physiol. **51**, 211. 1917. — Ege, Rich., diese Zeitschr. **107**, 246. 1920. — Falta, W. und M. Richter-Quittner, diese Zeitschr. **100**, 148. 1914. — Falta, W. und M. Richter-Quittner, diese Zeitschr. **114**, 145. 1921. — Fridericia, Journ. of biol. chem. **42**, 245. 1920. — Gryns, G., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **63**, 86. 1896. — Gürber, Sitzungsb. d. phys.-chem. Ges. 1895, S. 28. — Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre in der med. Wissenschaft **1**, 293. 1902. — Hedin, S., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **68**, 229. 1897. — Höber, R., Die phys. Chemie der Zelle und Gewebe 1911. — Limbeck, Schmiedeberg. Arch. **35**, 309. 1894. — Nasse, 5. Band d. naturw. Sitz., Marburg 1874, S. 56. — Overton, Nagels Handb. d. Physiol. **2**, 843. 1907. — Siebeck, R., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **85**, 214. 1920. — Snapper, I., Arch. f. klin. Med. **111**, 441. 1913. — Snapper, I., diese Zeitschr. **51**, 53. 1913. — Straub, H. und K. Meyer, diese Zeitschr. **98**, 205. 1919. — Warburg, E. K., diese Zeitschr. **107**, 252. 1920.

Die Wirkung des Kaolins auf die Endstückkomponente und das Tributyrinspaltungsvermögen des Meerschweinchenserums.

Von

O. Olsen.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 10. August 1921.)

Ausgehend von der Neubergschen Hypothese, daß bei den Vorgängen der Serumhämolyse lipolytische Prozesse fermentativer Natur interferieren, wurde in früheren Versuchen[1]) der Nachweis von Zusammenhängen zwischen Serumhämolyse und Lipolyse versucht. Bei diesen Untersuchungen, die sich einstweilen auf den Vergleich des Verhaltens von einzelnen Komponenten des hämolytischen Immunserums und des tributyrinspaltenden Agens des Serums beschränkten, das im folgenden, um nichts zu präjudizieren, als Tributyrinase bezeichnet wird, wurde ein Parallelismus zwischen hämolytischem Amboceptor und Tributyrinspaltungsvermögen vermißt. Wohl aber fanden sich unter verschiedenen Bedingungen weitgehende Analogien im Verhalten des sogenannten Endstückes des Komplements und der Tributyrinase, so bei der Behandlung frischen Meerschweinchenserums mit Kohlensäure nach Liefmann, die bekanntlich durch Ausflockung des Komplementmittelstücks dessen Trennung vom Endstück ermöglicht, und auch bei der Thermoinaktivierung, bei der nacheinander Endstück, Mittelstück und die von Sachs angenommene dritte Komponente, zerstört werden. Keinerlei Zusammenhänge bestanden dagegen zwischen Tributyrinspaltungsvermögen und dem Mittelstück sowie der dritten Komponente des Komplements.

Weitere bemerkenswerte Aufschlüsse ergaben Versuche[2]) über die Wirkung des Kaolins[3]) auf Tributyrinase und Endstück des Meerschweinchenserums, die im folgenden erörtert werden sollen.

---

[1]) Olsen und Goette, diese Zeitschr. **112**, H. 4/6, S. 188. — K. Goette, Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1920.

[2]) Zum Teil gemeinsam mit M. Huber, appr. Tierarzt, ausgeführt. Inaug.-Diss. Gießen.

[3]) Über Komplementinaktivierung durch Kaolin vgl. u. a. Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **5**, 538. 1910; Amako, Fol. serol. **7**, 367. 1911; Gengou, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **11**, 1. 1911; Friedberger und Putter, ebenda **30**.

Technik.

Die zu untersuchenden Sera wurden mit dem Kaolin — einem unserer Sammlung entnommenem Präparat unbekannter Herkunft — im Wasserbad bei 37° unter leichtem Aufschütteln digeriert, und zwar mittels der von Siebeck[1]) angegebenen Schüttelvorrichtung, die wir für unsere Zwecke so modifizierten, daß die das Serum-Kaolingemisch enthaltenden Fläschchen (Volumen 30 ccm) etwa 40—50 mal in der Minute leicht aufgeschüttelt wurden. Es handelte sich in diesen Versuchen also um eine Kombination der Kaolin- mit der Schüttelwirkung, bei der letzterer aber nur geringer Anteil zuzuschreiben ist, denn in Kontrollversuchen, die mit Sera ohne Kaolinzusatz, aber derselben Schüttelstärke vorgenommen wurden, zeigte sich ein zerstörender Einfluß des Schüttelns auf die Komplementfunktion entweder überhaupt nicht oder aber erst nach mehrstündiger Dauer in minimalem Grade. Von den auf diese Weise behandelten Sera wurden in bestimmten Zeitabständen Proben entnommen und diese nun auf ihren Gehalt an Tributyrinase und den Komponenten des Komplements untersucht.

Die Untersuchung auf Tributyrinase geschah wie in früheren Untersuchungen nach der von Rona und Michaelis angegebenen Tropfmethode. Benutzt wurden für sämtliche Versuche wiederum nur eine Pipette, die für Wasser eine Tropfenzahl von 92—94, für gesättigte wässerige Tributyrinlösung eine solche von 142—144 besaß. Die Tropfenzahlen, die innerhalb bestimmter Intervalle nach der Einwirkung des Serums auf die gesättigte Tributyrinlösung ermittelt wurden, geben für unsere Zwecke genügend vergleichbare Werte für den Grad der Tributyrinspaltung und damit auch für die vorhandene Lipasemenge an, die sich bekanntlich in einer mehr oder weniger raschen Erniedrigung der in der gesättigten Tributyrinlösung gefundenen hohen Tropfenzahlen ausdrückt. Die immer frisch bereitete wässerige Tributyrinlösung (Tributyrin Kahlbaum) wurde jeweils mit Phosphatregulatorgemisch in der nötigen Stärke versetzt, dessen H-Ionenkonzentration mittels der Michaelisschen Indikatorenmethode gelegentlich kontrolliert wurde. Die Zählung und ebenso die Einwirkung des Serums auf das Tributyrinphosphatgemisch erfolgte in sämtlichen Versuchen bei Zimmertemperatur.

Die Hämolyseversuche wurden mit 5proz. Hammelblutkörperchensuspension und hochwertigem, vom Kaninchen gewonnenem hammelblutlösendem Immunserum angestellt. Die Komplementtitration der zu untersuchenden Sera wurde mit gleichen Mengen zumeist 10—20fach sensibilisierten Blutkörperchen und fallenden Mengen der auf ihren Komplementgehalt zu untersuchenden Sera vorgenommen. Ebenso erfolgte die Endstück- bzw. Mittelstücktitration unter entsprechendem Zusatz gleicher nicht alleinlösender Mengen Mittelstück bzw. Endstück zu den sensibilisierten Blutkörperchen und unter Zusatz steigender Verdünnungen der zu titrierenden Proben. Die gefundenen Werte (k = komplette, fk = fast komplette, m = mäßige, w = wenig, Sp = Spur, $Spch$ = Spürchen Hämolyse) beziehen sich in sämtlichen Fällen auf die Lyse von 0,5 ccm 5proz. Hammelbluts bei einem Gesamtvolumen von 2,5 ccm Flüssigkeit. Die Zerlegung des Komplements in Endstück und Mittelstück erfolgte mittels Kohlensäuredurchleitung durch das mit Wasser verdünnte Serum nach Liefmann[2]). Es kam nur Mittel- bzw. Endstück in solchen Konzentrationen zur Verwendung, die allein auch nach mehrstündiger Beobachtung keine Hämolyse, gemischt aber rasche Auflösung der Blutkörperchen bewirkten. Die Ablesung der Versuche geschah nach mehrstündiger Beobachtung und vollständigem Ablauf der Reaktionen.

[1]) Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1909, Nr. 41.

Die Ergebnisse der Versuche, aus denen ich die in den Tabellen I—X angeführten herausgreife, sind folgende:

Tabelle I.

Versuch vom 14. II. 1921. 0,1 g Kaolin mit 15 ccm 5fach verdünntem Serum (0,006 g Kaolin pro Kubikzentimeter 5fach verdünnten Serums) bei 38° C geschüttelt.

a) Endstücktitration.

Hämolyse von 1,0 ccm 10fach sensibilisierten Hammelblutkörperchen mit einem Zusatz von 0,1 ccm konzentrierten Mittelstücks pro Kubikzentimeter.

Serum 5fach verdünnt	Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.	nach 50 Min.
0,5	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,4	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0,2	k.	k.	f. k.	m.	k.	m.
0,1	k.	w.	w.	Sp.	Spch.	Spch.
0	0	0	0	0	0	0

b) Tributyrinspaltung.

Tropfenzahl bei der Einwirkung von je 0,2 ccm des 5fach verdünnten Serums auf je 10 ccm Tributyrinphosphatgemisch bei 15,5° C.

Zeit der Einwirkung des Serums auf das Tributyrinphosphatgemisch in Min.	Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.	nach 50 Min.	Kontrolle: Serum ½ Std. 56°
0	137	135	137	132	137	134	137
10	127	126	126	121	128	124	137
20	123	119	119	113	119	112	137
30	119	113	112	108	111	110	137
40	115	110	109	107	108	108	137
50	111	107	107		107	107	138

Tabelle II.

Versuch vom 15. II. 1921. 15 ccm Serum $^1/_5$ mit 0,5 g Kaolin geschüttelt (0,03 pro ccm, Wasserbad 36,5° C).

a) Tributyrinspaltung[1]).

Tropfenzahl

nach Min.	Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.	nach 50 Min.	Kontrolle: Serum ½ Std. 56°
0	137	135	132	129	131	127	138
10	129	125	122	117	121	117	138
20	117	113	112	108	112	109	138
30	110	108	108	108	107	107	138
40	106	106	106	106			136

[1]) Vgl. die Versuchsanordnung in Tabelle I.

b) Endstücktitration[1]).

Serum 1/5	Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen					
0,5	k.	k.	k.	k. f. k.	f. k.	f. k.
0,4	k.	k.	k.	k. f. k.	w.	m.
0,2	f. k.	w.	w.	m.	w.	Sp.
0,1	f. k.	w.	Sp.	Spch.	Spch.	Spch.
0	0	0	0	0	0	0

Tabelle III.

Versuch vom 16. II. 1921. 15 ccm Serum 1/5 mit 1 g Kaolin (0,06 pro ccm) geschüttelt (Temp. 36,3, Zimmertemperatur 15° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.	nach 50 Min.	Kontrolle: Serum 1/2 Std. 56°
0	133	131	133	132	134	132	132
10	116	116	125	120	128	121	132
20	105	108	116	112	117	112	132
30		107	109	109	109	107	132
40		105	107	107	107	107	132
50			105	106	106	106	132

2. Endstücktitration[1]).

Serum 1/5	Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen					
0,5	k.	w.	0	0	0	0
0,4	k.	Sp.	0	0	0	0
0,2	k.—f. k.	0	0	0	0	0
0,1	Sp.	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

Tabelle IV.

Versuch vom 17. II. 1921. 15 ccm Serum 1/5 mit 1 g Kaolin geschüttelt (Wasserbad 36,8° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 1 Std.	nach 2 Stdn.	nach 3 Stdn.	nach 4 Stdn.	nach 5 Stdn.	Kontrolle: Serum 1/2 Std. 56°
0	132	126	134	138	140	140	136
10	115	112	123	125	128	124	136
20	107	107	108	111	112	109	136
30			106	107	107	106	137

2. Endstücktitration[1]).

Serum 1/5	Hämolyse mit persensibilisierten Blutkörperchen					
0.5	k.	0	0	0	0	0
0.4	k.	0	0	0	0	0
0.2	f.—k. f.	0	0	0	0	0
0.1	Sp.	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

[1]) Vgl. die Versuchsanordnung in Tabelle I.

Tabelle V.

Versuch vom 18. II. 1921. 15 ccm CO_2-Abguß mit 1 g Kaolin geschüttelt (Wasserbadtemp. 37°, Zimmertemperatur 16,5° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 10 Min.	nach 20 Min.	nach 30 Min.	nach 40 Min.	nach 50 Min.	Kontrolle: Serum ½ Std. 56°
0	137	139	139	138	139	139	138
10	116	117	120	114	123	117	138
20	108	109	114	108	109	107	138
30	106	106	106	106	106	105	139

2. Endstücktitration[1]).

CO_2-Abguß (1/5)	Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen					
0.5	k.	k.	w.	Sp.	0	0
0.4	Sp.	Spch.	0	0	0	0
0.2	Spch.	0	0	0	0	0
0.1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

Tabelle VI.

Versuch vom 21. II. 1921. 15 ccm Serum 1/5 mit 2 g Kaolin geschüttelt (0,13 pro ccm, Wasserbadtemp. 37,2° C, Zimmertemperatur 17° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 1 Std.	nach 2 Stdn.	nach 3 Stdn.	nach 4 Stdn.	nach 5 Stdn.	Kontrolle: Serum ½ Std. 56°
0	139	140	141	142	143	146	140
10	122	120	126	132	134	137	140
20	108	109	113	120	129	133	140
30			109	112	115	129	140
40				109	115	123	140
50					112	118	142

2. Endstücktitration[1]).

Serum 1/5	Hämolyse mit persensibilisierten Blutkörperchen					
0.5	k.	0	0	0	0	0
0,4	k.	0	0	0	0	0
0.2	k. f. k.	0	0	0	0	0
0.1	Spch.	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

Tabelle VII.

Versuch vom 17. III. 1921. 30 ccm Serum 1/5 mit 2 g Kaolin geschüttelt (entsprechend 15 ccm mit 1 g Kaolin. Wasserbad 37,3°, Zimmertemperatur 20° C).

[1]) Vgl. die Versuchsanordnung in Tabelle I.

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach 1 Std.	nach 2 Stdn.	nach 3 Stdn.	nach 4 Stdn.	nach 5 Stdn.	Kontrolle: Serum $^1/_2$ Std. 56°
0	144	145	145	144	145	145	145
10	127	131	129	129	131	135	145
20	112	119	118	117	118	125	145
30		113	110	111	111	116	145
40		110				113	145
50						110	145

2. Endstücktitration[1]).

Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen

Serum $^1/_5$	Zusatz von Serum $^1/_2$ Std. 54°, $^1/_5$ 0,5 *)									
	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit
1,0	k.	0	k.	0	k.	0	k.	0	m.	0	0
0,6	k.	0	k.	0	k.	0	m.	0	w.	0	0
0,4	k.	0	k.	0	k. f. k.	0	w.	0	Sp.	0	0
0,2	k.	0	k.	0	Spch.	0	0	0	0	0	0
0,1	f. k.	0	f. k.	0	Spch.	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) Kontrolle: Serum $^1/_2$ Stunde 54°: Frei von Tributyrinase, Mittel- und Endstück.

Tabelle VIII.

Versuch vom 18. III. 1921. 25 ccm Serum $^1/_5$ mit 2 g Kaolin (Wasserbad 37,1°, Zimmertemperatur 20° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Behandlung	nach $2^1/_2$ Stdn.	nach 5 Stdn.	nach $7^1/_2$ Stdn.	nach 10 Stdn.	Kontrolle: Serum $^1/_2$ Std. 56°
0	145	144	144	143	142	145
10	133	133	135	133	134	145
20	117	123	127	125	126	145
30	111	116	119	120	121	145
40		111	113	115	116	145
50			111	112	113	145
60				111	111	144

2. Endstücktitration[1]).

Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen

Serum $^1/_5$	Zusatz von Serum $^1/_2$ Std. 54°, $^1/_5$ 0,5 *)							
	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit
1.0	k.	0	0	0	0	0	0	0
0.6	k.	0	0	0	0	0	0	0
0.4	k.	0	0	0	0	0	0	0
0.2	k.	0	0	0	0	0	0	0
0.1	k.—f. k.	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) Inaktives Serum $^1/_2$ Stunde 54°: Frei von Endstück, Mittelstück und Tributyrinase.

[1]) Vgl. die Versuchsanordnung in Tabelle I.

Tabelle IX.

Versuch vom 21. III. 1921. 20 ccm CO_2-Abguß $^1/_5$ mit 3 g Kaolin geschüttelt (0,15 ccm), Temperatur des Wasserbades 37°, Zimmertemperatur 18° C).

1. Tributyrinspaltung[1]).

nach Min.	Tropfenzahl: Schütteln mit Kaolin: vor der Benandlung	nach $^1/_2$ Std.	nach $2^1/_2$ Stdn.	nach 5 Stdn.	Kontrolle: Serum $^1/_2$ Std. 56°
0	144	144	144	144	144
10	132	137	144	144	144
20	121	133	144	144	144
30	114	126	144	144	144
40	109	126	144	144	144
50		115	144	144	144
60		113	144	144	144

2. Endstücktitration[1]).

CO_2-Endstück	Hämolyse von persensibilisierten Blutkörperchen:	Zusatz von Serum $^1/_2$ Std. 54° $^1/_5$ 0,5 *) ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit
1,0	k.	0	0	0	0	0	0
0,6	k.	0	0	0	0	0	0
0,4	k.	0	0	0	0	0	0
0,2	k.—f. k.	0	0	0	0	0	0
0,1	m.—f. k.	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0

*) Serum $^1/_2$ Stunde 54°: Frei von Endstück, Mittelstück und Lipase.

Tabelle X.

Versuch vom 12. VII. 1920. I. 3 ccm Serum mit 0,5 g Kaolin unter gelegentlichem Aufschütteln 1 Stunde bei 37° digeriert. II. Das gleiche Serum mit Cobragift 1 Stunde behandelt.

Fallende Serummengen	Hämolyse von 1,0 ccm 20fach sensibilisierten Blutkörperchen (5%) durch fallende Mengen: I. des mit Kaolin behandelten Serums: a) ohne sonstigen Zusatz	b) + CO_2-Abguß $^1/_5$ 0,5	c) + CO_2-Sediment conc 0,1	d) + Serum $^1/_2$ Std. 54° 0,05	II. des mit Cobragift behandelten Serums: a) ohne Zusatz	b) + CO_2-Abguß $^1/_5$ 0,5	c) + CO_2-Sediment conc 0,1	d) + Serum $^1/_2$ Std. 54° 0,05	III. des unbehandelten Serums: ohne Zusatz
0,06	0	k.	k.	k.	Spch.	k.	k.	k.	k.
0,04	0	k.	k.	k.	0	k.	k.	k.	k.
0,02	0	k.	k.	k.	0	k.	k.	k.	k.
0,01	0	k.	k.	k.	0	k.	k.	k.	k.
0,006	0	f. k.	k.	m.	0	k.	k.	m.	Spch.
0,004	0	m. f. k.	f. k.	w.	0	m.	m. f. k.	w.	Sp.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) Vgl. die Versuchsanordnung in Tabelle I.

Bei der Einwirkung relativ großer Kaolinmengen (über 0,2 g auf den Kubikzentimeter des 5fach verdünnten Serums) erfolgte der Schwund sowohl der einzelnen Komponenten des Komplements als auch des Tributyrinspaltungsvermögens des Serums so rasch, daß eine zeitliche und quantitative Differenzierung nicht möglich war und der Verlust dieser Eigenschaften scheinbar gleichzeitig eintrat. Bei Anwendung geringerer Kaolinmengen aber gelang eine Abstufung der Vorgänge in zeitlicher und quantitativer Beziehung. Das Verhalten des Mittelstücks, das wie in früheren Versuchen auch jetzt keinerlei Beziehungen zur Tributyrinase aufwies, bedarf besonderer Besprechung.

Die als Endstückfunktion bezeichnete, an den Abguß bei der Kohlensäurefällung gebundene Fähigkeit des Serums, bei Vorhandensein von Mittelstück und spezifischem Amboceptor (persensibilisierte) Blutkörperchen zu lösen, erfährt bei der Einwirkung von Kaolin in sehr geringen Mengen (0,006 g Kaolin auf den Kubikzentimeter des 5fach verdünnten Serums) nach etwa 30 Minuten (Tabelle I) eine leichte Abschwächung, um durch größere Kaolinmengen (0,03 und 0,06 g pro Kubikzentimeter) oder längere Einwirkungsdauer (Tabelle II u. III) zuerst deutlich abgeschwächt und dann zerstört zu werden. So ist in Tabelle III der Verlust der Endstückwirkung schon 20 Minuten nach der Einwirkung von 0,06 g Kaolin auf den Kubikzentimeter des 5fach verdünnten Serums eingetreten.

Die Tributyrinase hingegen ist trotz 5 Stunden langer Behandlung mit 0,06 g Kaolin pro Kubikzentimeter, derselben Dosis also, die das Endstück schon nach 20 Minuten zerstört, noch fast völlig erhalten (Tabelle IV), mit der doppelten Menge Kaolin (0,13 g pro Kubikzentimeter) (Tabelle VI) noch nach 5 Stunden deutlich abgeschwächt nachweisbar und erst nach $2^1/_2$stündiger Behandlung mit 0,15 g pro Kubikzentimeter völlig zerstört (Tabelle IX).

Bei der Behandlung unverdünnten Serums oder anderer als 5facher Serumverdünnungen mit Kaolin war die Reihenfolge der Vorgänge die gleiche wie eben beschrieben, und auch in Versuchen mit dem nach Kohlensäurefällung des Serums gewonnenen Abguß, die vorgenommen wurden, um bei Abwesenheit des Mittelstücks den Einfluß des Kaolins auf das Endstück zu untersuchen, wurde die Endstückfunktion immer eher zerstört als das Tributyrinspaltungsvermögen.

Nun weisen bereits Versuche, u. a. von Sachs und seinen Mitarbeitern, daraufhin, daß weder das Mittelstück noch das Endstück als einheitliche Körper aufzufassen sind, sondern daß diese Bruchstücke des Komplements wiederum zusammengesetzten Bau besitzen. Das Mitwirken zahlreicher, zumeist allerdings bisher unbekannter Faktoren an dem

Zustandekommen der Komplementfunktion ist nicht unwahrscheinlich. Gerade der mittels der Kohlensäurebehandlung von Serum gewonnene „Abguß" enthält neben Albumin reichlich lösliche Bestandteile der verschiedensten Art, Eiweißabbauprodukte, Fettsäuregemische, Seifen usw., die nach den Versuchen über künstliche Komplementgemische (v. Liebermann, Noguchi u. a.) eine komplementartige Wirkung aufweisen können und vielleicht Anteil an der Endstückfunktion des „Abgusses" haben. So bestand die Möglichkeit, daß das Tributyrinspaltungsvermögen als ein Teil der Endstückwirkung an bestimmte Bestandteile des „Abgusses" gebunden war, die sich der Kaolinwirkung gegenüber als resistenter erwiesen als andere Teile, die ebenfalls zum Endstück gehörten. Es fragte sich daher, ob sich solche Teile des Endstücks isolieren lassen, die in ihrem Verhalten Analogien zur Tributyrinase aufwiesen.

Das Vorhandensein einer sogenannten 3. Komponente des Komplements, die bei der Kohlensäurefällung des Normalserums zum Teil im Abguß bleibt, größtenteils aber anscheinend ins Sediment übergeht, wurde durch die Versuche von Sachs und seinen Mitarbeitern[1]) wahrscheinlich gemacht. Die 3. Komponente des Komplements wird durch Cobragiftwirkung, aber auch durch Schütteln, Digerieren mit Bakterien zerstört; Eingriffe, bei der die übrigen Teile des End- und Mittelstücks erhalten bleiben, während sie sich gegenüber dem Einfluß der Hitze, also bei der Thermoinaktivierung als resistenter erweist. So vermag $^1/_4$ Stunde bei 55° und $^1/_2$ Stunde bei 54° erhitztes Serum, das sowohl die Endstück- als auch die Mittelstückwirkung verloren hat, das durch Cobragift seiner hämolytischen Wirkung beraubte Serum zu restituieren, also als 3. Komponente zu wirken.

Einige unserer Versuche zeigten in ihrem Ausfall Übereinstimmung mit den bei der Inaktivierung des Komplements durch Cobragift zu erhebenden Befunden. Danach wird auch durch die Kaolinwirkung anscheinend zuerst die Funktion der 3. Komponente aufgehoben.

Die Inaktivierung des Meerschweinchenserums durch Cobragift wurde in diesen Versuchen vorgenommen, indem 5 Teile Meerschweinchenserum mit 2 Teilen einer 3—6fach verdünnten 1 proz. Cobragiftlösung (Lamb V) eine Stunde bei 37° digeriert wurden.

In diesem I. Stadium (Tabelle X) der Kaolinwirkung, die sich in einer Zerstörung der Komplementfunktion äußert, war eine Restitution der Komplementwirkung möglich durch Zusatz entweder von CO_2-Sediment oder von CO_2-Abguß oder von $^1/_2$stündig auf 54° erhitztem Serum, das selbst weder Mittel- noch Endstückwirkung aufwies, zu dem mit Kaolin behandelten Serum.

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **11**, 710; **13**, 62; **15**, 145, 157; **16**, 284; **26**, 483, 503; **21**, 259.

In einem II. Stadium der Kaolinwirkung gelang eine Reaktivierung durch Zusatz von CO_2-Sediment allein nicht mehr, wohl aber, wenn außer dem CO_2-Sediment noch $^1/_2$stündig auf 54° erhitztes Serum (oder Abguß) dem mit Kaolin digerierten Serum zugefügt wurde (Tabelle VII).

In einem III. Stadium der Kaolinwirkung (Tabelle VII, VIII, IX) war auch das bei 54° erhitzte Serum nicht mehr imstande, mit dem mit Kaolin behandelten Serum zusammen persensibilisierte Blutkörperchen zu lösen.

Die Annahme einer 3. Komponente vermag zwar die im I. Stadium auftretenden Erscheinungen zu erklären, sie genügt aber nicht zur Deutung der nach weiterer Einwirkung des Kaolins im Stadium II erhaltenen Ergebnisse. Da nämlich die 3. Komponente bei der Kohlensäurefällung anscheinend hauptsächlich in das Sediment übergeht, ist der Verlust der 3. Komponente, wie er bei der Einwirkung des Cobragiftes und auch in unseren Versuchen im I. Stadium der Kaolinwirkung erfolgt, hauptsächlich durch das CO_2-Sediment zu ersetzen. Nun ist aber im II. Stadium eine Restitution des mit Kaolin behandelten Serums durch CO_2-Sediment nicht mehr möglich, obgleich dieses in Kontrollversuchen reichlich 3. Komponente aufwies. Man könnte vermuten, daß in diesem II. Stadium außer der 3. Komponente noch ein weiteres Bruchstück des Komplements zerstört wurde, das nicht wie die 3. Komponente hauptsächlich im CO_2-Sediment, sondern ausschließlich im CO_2-Abguß enthalten, aber auch im halbstündig bei 54° erhitzten Serum noch vorhanden war, mit dem die Reaktivierung ja gelang. Es würde sich hier wiederum um ein Bruchstück des Komplements bzw. des Endstücks handeln, das ähnlich wie die 3. Komponente bisher nur in ganz groben Zügen — durch sein Verhalten gegenüber dem Kaolin und dem Erhitzen — charakterisiert werden kann. Immerhin sind auch diese Versuche ein Beweis für die komplexe Konstitution des Komplements und seiner Endstück- und Mittelstückkomponenten, deren weitere Zerlegung und feinere Analyse mit dem Anwachsen der physikalisch-chemischen, biologischen und rein chemischen Differenzierungsmöglichkeiten zu erwarten ist.

Das Tributyrinspaltungsvermögen war in den eben besprochenen Versuchen (Tabelle VII, VIII, IX) zu einem Zeitpunkt in dem mit Kaolin behandelten Serum noch fast uneingeschränkt nachweisbar, wo dieses die Fähigkeit, mit Mittelstück und 54°-Serum versetzte Blutkörperchen zu lösen, bereits vollständig verloren hatte. Hier ist also scheinbar ein Verlust der hämolytischen Fähigkeit schon eingetreten, bevor die Tributyrinase geschädigt wurde, ein Parallelismus zwischen diesen Eigenschaften des Serums also nicht nachzuweisen. Die Entstehung hämolysehemmender Substanzen bei längerer Einwirkung des Kaolins, die zur Erklärung der Divergenzen herangezogen werden konnte, ist auf Grund diesbezüglicher Kontrollversuche auszuschließen. Es muß daher die Frage erwogen werden, ob tatsächlich Unterschiede in dem Verhalten der Tributyrinase und Teilen des Endstücks bestehen, oder ob nicht vielmehr der Nachweis weiterer Bestandteile des Endstücks eine Erklärung für die aufgetretenen

Divergenzen bieten könnte. Dabei ist vor allem auch der Umstand zu berücksichtigen, daß wir in den bisherigen Versuchen zunächst nur das Tributyrin-, nicht aber das sich von diesem vielleicht unterscheidende Lecithinspaltungsvermögen untersuchten, das möglicherweise gerade bei der Hämolyse eine Rolle spielt. Eine Entwirrung dieser komplizierten Vorgänge und eine Analyse der dabei wirksamen Faktoren wird, wie gerade diese Versuche mit aller Deutlichkeit zeigen, mittels serologischer Methoden allein nicht zu erreichen sein, sie wird sich nur unter Zuhilfenahme exakt chemischer Methoden ermöglichen lassen, deren Anwendung allerdings gerade auf dem Gebiet der Eiweiß- und Fettsubstanzen, die wohl hauptsächlich hier in Betracht kommen, einstweilen noch mit erheblichen Schwierigkeiten verknüpft ist.

Vergleichende Untersuchungen über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens.

Von

Georg Joachimoglu.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. August 1921.)

In den früheren Untersuchungen[1]) haben wir uns mit der hämolytischen und narkotischen Wirkung, der Wirkung auf das Herz, auf die Hefegärung und den Stoffwechsel der im Titel genannten Verbindungen beschäftigt. Zusammenfassend über die bisherigen Ergebnisse ist in einer kürzlich erschienenen Arbeit[2]) berichtet worden. In dieser Abhandlung konnte auch der Nachweis geführt werden, daß die Traubesche Theorie auf die von uns geprüften Verbindungen nicht anwendbar ist, weil ihre wässerigen Lösungen nicht capillaraktiv sind. Traube nahm an, daß Chloroform als eine flüchtige Substanz aus einer wässerigen Lösung in die Luft „diosmiert" und aus diesem Grunde die Oberflächenspannung der Lösung zu groß gefunden wird. Es konnte experimentell der Nachweis geführt werden, daß diese Annahme nicht richtig ist.

Über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens (Monochlormethan, Chloroform, Dichlormethan, Äthylendichlorid [Acetylendichlorid], Trichloräthylen, Äthylchlorid) hat kürzlich E. Salkowski[3]) berichtet. Dieser Forscher beschäftigte sich mit der Konservierung von Fleisch, Milch usw. durch Chloroform und einige seiner Verwandten. In einer älteren Abhandlung berichtet Salkowski[4]) über die Wirkung wässeriger Chloroformlösungen auf Milzbrandbacillen und Choleravibrionen.

---

[1]) W. Plötz, diese Zeitschr. **103**, 243. 1920. — G. Joachimoglu, Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 7, S. 147. — W. Kiessling, diese Zeitschr. **114**, 292. 1921. — Plagge, ebenda **118**, 29. 1921. — Vgl. auch Heffter und Joachimoglu, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. u. öff. Sanitätsw. **48** (Suppl.). 1914.

[2]) G. Joachimoglu, diese Zeitschr. **120**, 203. 1921.

[3]) E. Salkowski, diese Zeitschr. **107**, 190. 1920. Die von Salkowski in dieser Arbeit mitgeteilten Zahlen über die Löslichkeit dieser Körper stimmen mit den von uns (vgl. Plötz, diese Zeitschr. **103**, 243. 1920) ermittelten Zahlen gut überein.

[4]) E. Salkowski, Dtsch. med. Wochenschr. **1888**, Nr. 16.

Entsprechend dem Plan unserer früheren Untersuchungen habe ich versucht, die Konzentrationen festzustellen, bei welchen nach einer 24stündigen Einwirkungsdauer bei Zimmertemperatur eine bestimmte Bacillenmenge abgetötet wird. Die antiseptische Wirkung dieser Verbindungen ist gering und wir haben aus diesem Grunde den Vibrio Metschnikoff gewählt, einen Mikroorganismus, der im allgemeinen gegen Antiseptica empfindlich ist und der sich früher für die Feststellung der antiseptischen Wirkung der 3 Campherisomeren[1]) als sehr geeignet erwiesen hat. Der Colibacillus erwies sich gegenüber den gesättigten Lösungen der Chlorderivate als zu widerstandsfähig. Innerhalb 24 Stunden war eine Abtötung nicht festzustellen.

Eine 24stündige Schrägagarkultur von Vibrio Metschnikoff wurde in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser

Tabelle I.

Nr.	Dichlormethan 10 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—*)
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	**2,0**	1,0	—
2	1,8	1,2	+
3	1,6	1,4	+
4	1,4	1,6	+
5	1,2	1,8	+
6	Kontrolle	3,0	+

*) — bedeutet kein Wachstum, + bedeutet Wachstum.

Tabelle II.

Nr.	Chloroform 5 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,8	0,2	—
3	2,6	0,4	—
4	2,4	0,6	—
5	**2,2**	0,8	—
6	2,0	1,0	+
7	1,8	1,2	+
8	1,8	1,4	+
9	1,4	1,6	+
10	Kontrolle	3,0	+

Tabelle III.

Nr.	Tetrachlormethan 0,5 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	**2,6**	0,4	—
3	2,0	1,0	+
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	2,8	0,2	—
2	**2,6**	0,4	—
3	2,4	0,6	+
4	2,2	0,8	+
5	2,0	1,0	+
6	1,8	1,2	+
7	Kontrolle	3,0	+

Tabelle IV.

Nr.	Äthylendichlorid 6,8 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl.	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	1,8	1,2	—
2	**1,6**	1,4	—
3	1,4	1,6	+
4	1,2	1,8	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+

[1]) Vgl. G. Joachimoglu, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **80**, 282. 1917.

Aufschwemmung wurden je 3 Tropfen in die wässerige Lösung der betreffenden Chlorverbindung gebracht. Die Röhrchen blieben bei Zimmertemperatur 24 Stunden lang im Dunkeln stehen. Am nächsten Tag wurde je eine Öse auf Schrägagar gebracht. Die Agarröhrchen kamen für 24 Stunden in den Brutschrank (37°). Nach dieser Zeit wurde das Resultat abgelesen. Eine Anzahl von Versuchen haben wir in den Tabellen I—XI zusammengestellt.

Tabelle V.

Nr.	Äthylidenchlorid 3,5 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	2,0	1,0	—
4	**1,5**	1,5	—
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	1,8	1,2	—
2	1,6	1,4	—
3	1,4	1,6	—
4	**1,2**	1,8	—
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle VI.

Nr.	Tetrachloräthan 1,25 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	2,0	1,0	—
4	1,5	1,5	—
5	**1,0**	2,0	—
6	Kontrolle	3,0	+
1	1,0	2,0	—
2	**0,9**	2,1	—
3	0,7	2,3	+
4	0,5	2,5	+
5	0,4	2,6	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle VII.

Nr.	Pentachloräthan 0,1 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	**2,6**	0,4	—
3	2,0	1,0	+
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	2,5	0,5	—
2	2,4	0,6	—
3	**2,3**	0,7	—
4	2,2	0,8	+
5	2,0	1,0	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle VIII.

Nr.	10 mg Hexachloräthan in 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	1,8	1,2	—
2	**1,6**	1,4	—
3	1,4	1,6	+
4	1,2	1,8	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle IX.

Nr.	Dichloräthylen 1 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+

Nr.	Dichloräthylen 1 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	**2,0**	1,0	—
2	1,8	1,2	+
3	1,6	1,4	+
4	1,4	1,6	+
5	1,2	1,8	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle X.

Nr.	Trichloräthylen 0,8 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	3,0	—	—
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	2,0	1,0	—
2	**1,8**	1,2	—
3	1,6	1,4	+
4	1,4	1,6	+
5	1,2	1,8	+
6	Kontrolle	3,0	+

Tabelle XI.

Nr.	Tetrachloräthylen 0,05 : 1000 H_2O (8,5 g NaCl)	physiol. NaCl	Resultat
1	**3,0**	—	—
2	2,6	0,4	—
3	**2,0**	1,0	—
4	1,5	1,5	+
5	1,0	2,0	+
6	Kontrolle	3,0	+
1	2,0	1,0	—
2	1,8	1,2	—
3	**1,6**	1,4	—
4	1,4	1,6	+
5	1,2	1,8	+
6	Kontrolle	3,0	+

Die Tabellen erlauben uns, die Konzentrationen auszurechnen, bei welchen nach 24stündiger Einwirkungsdauer die Vibrionen abgetötet werden. Die ermittelten Zahlen befinden sich in Tabelle A. Setzt man

Tabelle A.

Tabellen 1—8.		Vibrio Metschnikoff wird nach 24stündiger Einwirkungsdauer abgetötet bei einem Gehalt von			Wirkungszahl $CHCl_3 = 1$
		ccm im Liter	g	Mol.	
1.	Dichlormethan CH_2Cl_2	6,66	8,813	0,1037	0,4
2.	Chloroform $CHCl_3$	3,7	5,509	0,04615	1
3.	Tetrachlormethan CCl_4	0,433	0,6909	0,00449	10,2
4.	Äthylendichlorid CH_2Cl | CH_2Cl	3,6	4,507	0,0455	1
5.	Äthylidenchlorid CH_3 | $CHCl_2$	1,4	1,645	0,0166	2,7
6.	Tetrachloräthan $CHCl_2$ | $CHCl_2$	0,375	0,6	0,00357	1,3
7.	Pentachloräthan CCl_3 | $CHCl_2$	0,0766	0,1295	0,00064	72
8.	Hexachloräthan CCl_3 | CCl_3	—	0,00533	0,00002243	2057

Tabellen 9—11		Vibrio Metschnikoff wird nach 24stündiger Einwirkungsdauer abgetötet bei einem Gehalt von			Wirkungszahl $CHCl_3 = 1$
		ccm im Liter	g im Liter	Mol.	
9.	Dichloräthylen $\begin{matrix}CHCl\\ \|\|\\ CHCl\end{matrix}$	0,666	0,832	0,00858	5,3
10.	Trichloräthylen $\begin{matrix}CHCl\\ \|\|\\ CCl_2\end{matrix}$	0,48	0,7056	0,005372	8,6
11.	Tetrachloräthylen $\begin{matrix}CCl_2\\ \|\|\\ CCl_2\end{matrix}$	0,03	0,04857	$\frac{1}{4}$0,0002929	157,5

die antiseptische Wirksamkeit des Chloroforms = 1, so betragen die entsprechenden Zahlen bei Dichlormethan 0,4, bei Tetrachlormethan 10,2, bei Äthylendichlorid 1,0, bei Äthylidenchlorid 2,7, bei Tetrachloräthan 1,3, bei Pentachloräthan 72, bei Hexachloräthan 2057, bei Dichloräthylen 5,3, bei Trichloräthylen 8,6, bei Tetrachloräthylen 157,5. Die antiseptische Wirksamkeit nimmt demnach in der Reihenfolge Hexachloräthan, Tetrachloräthylen, Pentachloräthan, Tetrachlormethan, Trichloräthylen, Dichloräthylen, Äthylidenchlorid, Tetrachloräthan, Äthylendichlorid, Chloroform, Dichlormethan ab. Vergleichen wir diese Resultate mit den früher gefundenen, so ergeben sich folgende Reihenfolgen der Wirksamkeit dieser Körper (vgl. Tabelle B).

Tabelle B.

Steht an	Hämolyse	Narkose	In bezug auf		Die Wirkung auf Bakterien
			die Wirkung auf das isolierte Froschherz	die Hefegärung	
1. Stelle	Tetrachlormethan CCl_4	Hexachloräthan $\begin{matrix}CCl_3\\ \|\\ CCl_3\end{matrix}$	Pentachloräthan $\begin{matrix}CCl_3\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Tetrachloräthan $\begin{matrix}CHCl_2\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Hexachloräthan $\begin{matrix}CCl_3\\ \|\\ CCl_3\end{matrix}$
2. „	Tetrachloräthan $\begin{matrix}CHCl_2\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Pentachloräthan $\begin{matrix}CCl_3\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Tetrachloräthan $\begin{matrix}CHCl_2\\ \|\|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Chloroform $CHCl_3$	Tetrachloräthylen $\begin{matrix}CCl_2\\ \|\|\\ CCl_2\end{matrix}$
3. „	Chloroform $CHCl_3$	Tetrachloräthan $\begin{matrix}CHCl_2\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$ Trichloräthylen $\begin{matrix}CHCl\\ \|\|\\ CCl_2\end{matrix}$	Tetrachlormethan CCl_4	Äthylidenchlorid $\begin{matrix}CH_3\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Pentachloräthan $\begin{matrix}CCl_3\\ \|\|\\ CHCl_2\end{matrix}$
4. „	Äthylidenchlorid $\begin{matrix}CH_3\\ \|\\ CHCl_2\end{matrix}$	Tetrachloräthylen $\begin{matrix}CCl_2\\ \|\\ CCl_2\end{matrix}$	Trichloräthylen $\begin{matrix}CHCl\\ \|\|\\ CCl_2\end{matrix}$	Äthylendichlorid $\begin{matrix}CH_2Cl\\ \|\\ CH_2Cl\end{matrix}$	Tetrachlormethan CCl_4

Steht an	Hämolyse	Narkose	In bezug auf		Die Wirkung auf Bakterien
			die Wirkung auf das isolierte Froschherz	die Hefegärung	
5. Stelle	Äthylidenchlorid CH_3-CHCl_2	Äthylidenchlorid CH_3-CHCl_2	Äthylidenchlorid CH_3-CHCl_2	Dichlormethan CH_2Cl_2	Trichloräthylen $CHCl=CCl_2$
6. „	Dichlormethan CH_2Cl_2	Tetrachlormethan CCl_4	Dichloräthylen $CHCl=CHCl$	—	Dichloräthylen $CHCl=CHCl$
7. „	—	Chloroform $CHCl_3$ Äthylidendichlorid CH_2Cl-CH_2Cl	Chloróform $CHCl_3$	—	Äthylidenchlorid CH_3-CHCl_2
8. „	—	Dichloräthylen $CHCl=CHCl$	Äthylendichlorid CH_2Cl-CH_2Cl	—	Tetrachloräthan $CHCl_2-CHCl_2$
9. „	—	Dichlormethan CH_2Cl_2	Dichlormethan CH_2Cl_2	—	Äthylendichlorid CH_2Cl-CH_2Cl Chloroform $CHCl_3$
10. „	—	—	—	—	Dichlormethan CH_2Cl_2

Wir sehen, daß die für die antiseptische Wirkung ermittelte Reihenfolge der Abnahme der Wirksamkeit mit den früher ermittelten nicht übereinstimmt. Das Tetrachloräthan, welches in bezug auf Hämolyse, Narkose, Wirkung auf das Herz, Hefegärung viel stärker wirksam war als das Chloroform, übertrifft in bezug auf die antiseptische Wirkung sehr wenig diese Verbindung. In der Reihe Dichlormethan, Chloroform, Tetrachlormethan nimmt die Wirksamkeit mit der Zahl der Chloratome zu, ebenso in den Reihen Tetrachloräthan, Pentachloräthan, Hexachloräthan sowie auch in der Reihe Dichloräthylen, Trichloräthylen, Tetrachloräthylen. Wir hatten früher gesehen, daß in bezug auf die narkotische Wirkung Trichloräthylen wirksamer war als Tetrachloräthylen. Ganz außerordentlich stark ist die antiseptische Wirkung des Hexachloräthans; sie ist 2057 mal stärker als die des Chloroforms.

Zusammenfassung.

1. Die wässerigen Lösungen einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens (Dichlormethan, Chloroform, Tetrachlormethan, Äthylendichlorid, Äthylidenchlorid, Tetrachloräthan, Pentachloräthan, Hexachloräthan, Dichloräthylen, Trichloräthylen, Tetrachloräthylen) wirken antiseptisch.

2. Bei 24stündiger Einwirkungsdauer betragen die Konzentrationen, welche Vibrio Metschnikoff abtöten, in Mol bei Dichlormethan 0,1037,

bei Chloroform 0,04615, bei Tetrachlormethan 0,00449, bei Äthylendichlorid 0,0455, bei Äthylidenchlorid 0,0166, bei Tetrachloräthan 0,00357, bei Pentachloräthan 0,00064, bei Hexachloräthan 0,00002243, bei Dichloräthylen 0,00858, bei Trichloräthylen 0,005372, bei Tetrachloräthylen 0,0002929.

3. Die antiseptische Wirkung (Vibrio Metschnikoff) dieser Verbindungen nimmt in der Reihenfolge Hexachloräthan, Tetrachloräthylen, Pentachloräthan, Tetrachlormethan, Trichloräthylen, Dichloräthylen, Äthylidenchlorid, Tetrachloräthan, Äthylendichlorid, Chloroform, Dichlormethan ab.

Über die aktuelle Reaktion des Liquor cerebrospinalis.

Von

Klothilde Meier.

(Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 15. August 1921.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die aktuelle Reaktion des Liquor cerebrospinalis, d. h. die Konzentration an freien Wasserstoffionen, wurde bisher von den meisten Autoren wesentlich alkalischer angegeben als die des Blutes.

Während nach den Untersuchungen von Hasselbalch[1]) und Straub und Meier[2]) die Wasserstoffzahl des Blutes 7,35 bzw. 7,33 beträgt, werden für die Reaktion des Liquors zum Teil Werte über 8,0 mitgeteilt. Andererseits wieder fanden Parsons und Shearer[3]) für die Reaktion des normalen Liquors Wasserstoffionenkonzentrationen, die größer sind als die für das Blut bekannten, wonach die Reaktion der Lumbalflüssigkeit weniger alkalisch wäre als die des Blutes. Sie geben Werte von $p_H = 7{,}18$ und 7,12 an. Diese Autoren haben in 3 Fällen die Kohlensäurekapazität des Liquors bei je 2 Kohlensäurespannungen gasanalytisch bestimmt und aus dem direkt ermittelten Kohlensäuregehalt des vor Berührung mit der Luft geschützten Liquors die Kohlensäurespannung und die Wasserstoffzahl berechnet. Weder der Verlauf der Bindungskurven noch die Wasserstoffzahl stimmt mit den von mir nach demselben Prinzip gefundenen Werten überein. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit haben sich dann dieselben Autoren[4]) ausschließlich der Indicatorenmethode bedient und dabei in 3 Normalfällen Wasserstoffzahlen von 7,4 und 7,3 gefunden.

Die von früheren Autoren in der Regel nicht angewendete Vorsicht, den Liquor bei dem normalen Gasgehalt zu untersuchen, wurde von Parsons und Shearer beobachtet. Die Kohlensäure stellt einen wichtigen Faktor für die Reaktion von Körperflüssigkeiten dar. Es ist also sowohl bei der Entnahme wie bei der Untersuchung ein Entweichen derselben zu verhindern. Auf diese Kautelen kann nur dann verzichtet werden, wenn man auf irgendeine andere Weise zu der Kenntnis der

---

[1]) K. A. Hasselbalch, diese Zeitschr. **49**, 451. 1913.

[2]) H. Straub und Kl. Meier, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **125**, 477. 1918.

[3]) T. R. Parsons and C. Shearer, Journ. of physiol. **54**, H. 1/2, S. 62. 1920.

[4]) C. Shearer and T. R. Parsons, Quarterly journ. of med. **14**, Nr. 54, S. 120. 1921.

Kohlensäurespannung gelangen kann, mit der die zu untersuchende Flüssigkeit sich im Gasgleichgewicht hält. Das ist z. B. beim Blut der Fall. Nach Krogh ist die Kohlensäurespannung des arteriellen Blutes gleich der Kohlensäurespannung in der Alveolarluft. Kann die Alveolarluft analysiert werden, so ist es zur Bestimmung der Wasserstoffzahl nicht notwendig, bei der Entnahme des Blutes einen Gasverlust zu verhindern. Die im Blute bei dieser Gasspannung enthaltene freie und gebundene Kohlensäure kann aus der Kohlensäurebindungskurve ermittelt und somit die Wasserstoffzahl nach der von Hasselbalch angegebenen Formel berechnet werden.

Bei der Untersuchung des Liquors steht uns ein solches Hilfsmittel nicht zur Verfügung. Wir müssen also darauf zurückgreifen, die Flüssigkeit mit der atmosphärischen Luft nicht in Gasaustausch treten zu lassen. Das wurde in den vorliegenden Versuchen auf folgende Weise erreicht: Die Punktionsnadel wurde durch ein kurzes Schlauchstück mit einem Glasrohr verbunden, dessen Ende in eine feine Capillare ausgezogen war. Der Schlauch wurde mit sterilem Paraffinöl gefüllt, das den Liquor sofort von der Luft abschloß. Die Capillare wurde in einem Reagensglas unter Paraffinöl getaucht, unter dem der Liquor aufgefangen wurde. Die Wasserstoffzahl wurde, soweit es möglich war, immer auf zweierlei Weise bestimmt, nämlich erstens mit der von Friedenthal angegebenen Indicatorenmethode und zweitens mit der Gasanalyse unter Benützung der Barcroftschen Differentialapparate. Bei der colorimetrischen Methode wurde der Indicator mit einer Pipette unter das Paraffinöl gegeben und die Farbe mit einer aus Phosphatpufferlösung hergestellten Lösung bekannter Wasserstoffzahl verglichen. Zur Verwendung kam als Indikator fast ausschließlich Neutralrot. In den Fällen, in denen der Liquor sehr starken Eiweißgehalt und geringe Blutbeimengungen zeigte, wurde wegen der sich ergebenden Ungenauigkeit auf die Indicatorenmethode verzichtet. Für die Bestimmung der Wasserstoffzahl mit Hilfe der Gasanalyse wurde zuerst durch Analyse im Barcroftschen Apparat der ursprüngliche Gesamtgehalt des Liquors an Kohlensäure festgestellt. Es erwies sich dabei als vorteilhaft, wenn der Liquor, natürlich wieder unter Paraffin, gleich in das Tonometer gebracht wurde, da dasselbe in eine geeichte Pipette ausgezogen war, wodurch Kohlensäureveluste sicher vermieden wurden. Nach Feststellung der ursprünglichen Kohlensäurevolumprozente — im folgenden als „aktueller Kohlensäuregehalt" bezeichnet — wurde durch Titration des Liquors mit Kohlensäure nach der Methode von Straub und Meier[1]) die Kohlensäurebindungskurve bestimmt, wobei der Paraffinschutz natürlich entfernt wurde. Trägt man die so gewonnene Kohlensäurebindungskurve in ein Koordinatensystem ein mit der Kohlensäure-

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 89, 156. 1918.

spannung als Abszisse und den Volumprozenten als Ordinate, so kann aus dem ursprünglichen Gehalt des Originalliquors und aus der Bindungskurve die natürliche „aktuelle" Kohlensäurespannung des Liquors ermittelt werden. Die Berechnung der Wasserstoffzahl erfolgt dann wie im Blute aus Kohlensäurespannung und Kohlensäuregehalt nach der Formel von Hasselbalch[1]). Diese Methode, bei der aus der Bindungskurve die unbekannte Kohlensäurespannung ermittelt werden muß, bleibt an Genauigkeit weit hinter der im Blute verwendeten zurück, bei der man durch die Alveolargasanalyse zur Kenntnis der Kohlensäurespannung kommt und nur die Volumprozente aus der Kurve zu eruieren sind. Die im letzteren Fall auf die Abszisse gefällte Senkrechte, die der ermittelten Kohlensäurespannung entspricht, trifft die Bindungskurve rechtwinklig. Der Schnittpunkt ist scharf bestimmt. Kleine Bestimmungsfehler in der Kohlensäurespannung bedingen noch kleinere in den errechneten Kohlensäurevolumprozenten. Anders ist es bei dem hier zur Liquoruntersuchung angewendeten Vorgehen. Die von der Ordinate gezogene Senkrechte, die den analytischen Volumprozenten entspricht, verläuft nahezu tangential und streift daher mehrere Punkte der Kurve. Differenzen von ungefähr einem Volumprozent in der Bestimmung können bei dem flachen Verlauf der Bindungskurve Unterschiede von 3 mm in der errechneten Kohlensäurespannung ergeben. Es ist deshalb, um den aktuellen Punkt des genuinen Liquors zu ermitteln, nötig, die Volumprozente sehr genau zu bestimmen und außerdem den genauen Verlauf der Kurve zu kennen. Die Fehlerbreite der Methode ist also bei diesem Vorgehen ziemlich groß. Doch gaben die beiden Methoden zur Bestimmung der aktuellen Wasserstoffzahl sehr gut übereinstimmende Werte.

Es wurde zunächst der Liquor von 2 vollkommen Gesunden untersucht. Dabei ergaben sich für die Wasserstoffionenkonzentration mit der Indicatorenmethode Werte von 7,38 und 7,33, durch Berechnung aus Kohlensäurekapazität und Bindungskurve im zweiten Falle 7,35. Die Reaktion des Liquors in den beiden untersuchten Normalfällen ist also nur wenig alkalischer oder gleich wie die des Blutes, wenn wir für die Reaktion des Blutes $p_H = 7{,}33$ annehmen. Der Gesamtgehalt des Liquors an Kohlensäure wurde nur im zweiten Falle bestimmt und betrug 52,8 Vol.-%. Er ist ungefähr ebenso groß wie der des Blutes. Denn er schwankt im Blute nach den von Straub und Meier[2]) mitgeteilten Normalkurven zwischen 47 und 67 Vol.-%, gemessen bei 40 mm Kohlensäurespannung; nach Peters, Barr und Rule[3]) zwischen 43 und 56. Die errechnete Kohlensäurespannung betrug dann im

[1]) K. A. Hasselbalch, diese Zeitschr. **78**, 112. 1916.
[2]) H. Straub und Kl. Meier, Arch. f. klin. Med. **129**. 54. 1919.
[3]) J. Peters, D. Barr and F. Rule, Journ. of biol. chem. **45**, 489. 1921.

Liquor 39 mm und weicht damit auch nicht von der des arteriellen Blutes ab.

Normal:				
CO_2-Spannung . . .	38,1	59,7	95,7	
CO_2-Kapazität . . .	53,8	54,4	61,6	
p_H	7,37	7,17	7,00	
Aktuelle p_H = 7,38 (Indicatoren).				
Normal:				
CO_2-Spannung . . .	32,8	77,5	114,2	154,4
CO_2-Kapazität . . .	51,7	54,4	55,3	60,3
	53,6			
p_H	7,42	7,05	6,87	6,75
	7,439			
Aktuelle CO_2-Vol.-% = 52,3 und 53,4. CO_2-Spannung = 39 mm.				
Aktuelle p_H = 7,33 (Indicatoren)				
= 7,35 (berechnet).				
Normal:				
CO_2-Spannung . . .	8,7	21,3	58,6	110,0
CO_2-Kapazität . . .	53,0	55,7	57,7	60,7
	54,1		56,5	60,6
p_H	8,02	7,66	7,20	6,93
	8,03		7,195	6,93

Ganz anders als im Blute verhält sich dagegen das Kohlensäurebindungsvermögen des Liquors bei niedrigeren und höheren Kohlensäurepartiardrücken und somit der Verlauf der Bindungskurve. Im Blute steigt sie in einem flachen Bogen ziemlich steil an (Abb. 1, Punkte, ausgezogene Kurve). Es wird selbst bei sehr hohen Kohlensäurespannungen noch Kohlensäure chemisch gebunden, so daß die Kurve auch im weiteren Verlauf noch steiler ansteigt als dem physikalischen Lösungsvermögen entspricht. Die Blutkurve ist also stark gepuffert. Als Puffer kommen im Blut weniger die Serumeiweißkörper in Frage, die eine zwar nachweisbare, aber bescheidene Rolle als Puffersubstanzen spielen, sondern nach Hasselbalch vielmehr das Hämoglobin, nach Straub und Meier die intakten roten Blutkörperchen. Das Serum (Abb. 1, stehende Kreuze, gestrichelte Kurve), in dem dieser wirksame Puffer fehlt, weist eine völlig andere Kurve auf. Diese steigt sofort steil an und erreicht schon bei niedrigen Spannungen annähernd das Maximum der chemischen Kohlensäurebindungsfähigkeit. Mit weiterem Ansteigen der Kohlensäurespannung wird dann nur noch der zunehmenden Spannung entsprechend Kohlensäure physikalisch absorbiert. Demnach steigt die Kurve dann nur mehr wenig und verläuft in diesem Teil (vgl. Abb. 1) parallel dem oberen Rande des schraffierten Dreieckes, das die physikalisch absorbierte Kohlensäure darstellt. Sie nähert sich einer reinen Bicarbonatkurve außerordentlich stark. Ganz ähnliche Verhältnisse haben wir bei den mitgeteilten Liquorkurven. Sie steigen ebenfalls zunächst sehr steil an und zeigen sich dann im weiteren Ver-

laufe noch weniger gepuffert wie die Serumkurve. Die Puffersubstanzen des Liquors sind also entsprechend dem geringen Eiweißgehalt noch spärlicher als die des Serums (Abb. 1, liegende Kreuze, strichpunktierte Kurve). Die Wasserstoffzahl des Liquors wird demnach durch minimale Änderungen des Kohlensäuregehaltes sehr empfindlich beeinflußt.

Ein Fall von Glaukom und einer Drucksteigerung von 195 mm im Liquor ohne sonstige pathologische Veränderungen desselben (Nonne-Apelt negativ, 2 Zellen im Kubikmillimeter) zeigte ebenfalls normale Werte. Die aktuelle Wasserstoffzahl betrug 7,40 (Indicatoren) bzw. 7,37 (Bindungskurve). Der aktuelle Kohlensäuregehalt betrug 49,5 Vol.%, und daraus wurde die Kohlensäurespannung zu 35 mm berechnet.

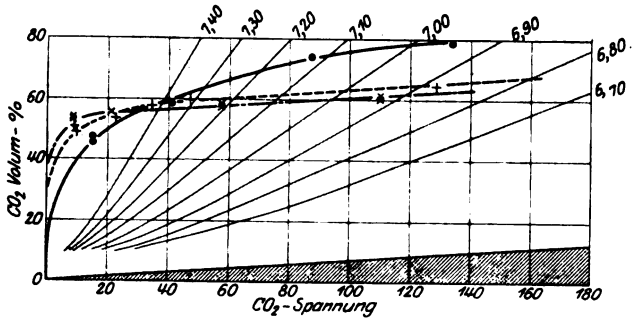


Abb. 1. Kohlensäurebindungskurven.
— • — Blut,
— — + — — Serum (nach Straub und Meier, diese Zeitschr. 89. 156. 1918),
- - - × - - - Liquor.

Die großen Punkte um die Wasserstofflinie 7,40 stellen die Wasserstoffzahlen, Kohlensäurekapazität und Kohlensäurespannung von normalem Liquor dar, die Punkte um 7,10 die von acidotischem Liquor bei epidemischer Meningitis.

Glaukom:

CO_2-Spannung . . .	37,9	87,0	135,5
CO_2-Kapazität . . .	51,8	56,2	59,0
p_H	7,36	7,01	6,82

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 48,0 und 51,1. CO_2-Spannung = 35 mm.

Aktuelle $p_H = \begin{matrix} 7{,}40 \text{ (Indicatoren)} \\ 7{,}37 \text{ (berechnet).} \end{matrix}$

Auch die Untersuchung des Liquors von 2 Kranken mit Tabes dorsalis ergab keine von den bisherigen abweichenden Verhältnisse. Die Reaktion war von den Normalwerten nicht wesentlich verschieden und betrug 7,43 (Indicatoren), 7,43 (Bindungskurve), 7,48 (Indicatoren), 7,47 (Bindungskurve). Die Kohlensäurespannung war sogar etwas niedriger wie die im Blute, nämlich 33 und 30 mm, wie das in den meisten weiteren untersuchten Fällen gefunden wurde. Die Bindungskurve zeigte vollkommen den Verlauf der Normalkurve, sowohl in der Richtung wie in der Höhe. Die Kohlensäurekapazität betrug 53,2 und 51,85 im Mittel.

Tabes dorsalis:

CO_2-Spannung . . .	27,5	83,9	127,3	177,7
CO_2-Kapazität . . .	50,2	59,0	59,4	60,9
	53,0		62,9	64,4
p_H	7,49	7,05	6,85	6,69
	7,52		6,87	6,71

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 52,9 und 53,5. CO_2-Spannung = 33 mm.

Aktuelle p_H = 7,42 (Indicatoren) 7,43 (berechnet).

Tabes dorsalis:

CO_2-Spannung . . .	22,7	73,5	223,7
CO_2-Kapazität . . .	51,8	54,6	67,6
	49,9	54,7	65,8
p_H	7,59	7,07	6,61
	7,57	7,07	6,60

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 52,0 und 51,7. CO_2-Spannung = 30 mm.

Aktuelle p_H = 7,48 (Indikatoren) 7,47 (berechnet).

Weiter wurde ein Liquor untersucht, der nach den üblichen Untersuchungsmethoden ein normales Verhalten zeigte. Der Druck betrug 90 mm, die Wassermannsche Reaktion war im Liquor negativ, die Zellzahl nicht vermehrt. Im klinischen Bild war bei dem Patienten nur eine temporale Abblassung der Papille aufgefallen. Es ist dies unter den sämtlichen untersuchten Fällen der, der die am meisten alkalische Reaktion und das größte Bindungsvermögen für Kohlensäure hatte. Die Wasserstoffzahl betrug 7,58 (Indicatoren), berechnet 7,59, der aktuelle Kohlensäuregehalt 57,6 Vol.-%, dagegen die berechnete Kohlensäurespannung nur 25 mm. Wieweit dieser Fall als pathologisch aufzufassen ist, darüber kann erst ein größeres Untersuchungsmaterial entscheiden.

Temporale Abblassung der Papille:

CO_2-Spannung . . .	27,1	79,7	123,5
CO_2-Kapazität . . .	58,3	59,4	67,1
		62,7	
p_H	7,56	7,07	6,92
		7,097	

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 57,6. CO_2-Spannung = 25 mm.

Aktuelle p_H = 7,58 (Indicatoren) 7,59 (berechnet).

Während der bisher untersuchte Liquor klar und ohne besondere Eiweißbeimengungen war, wurde nun meningitischer Liquor mit oft außerordentlich starkem Eiweißgehalt geprüft. 6 Untersuchungen von tuberkulös meningitischem Liquor ergaben wieder normale Verhältnisse. Die Reaktion schwankte zwischen 7,38 und 7,48. Die Kohlensäurespannung war entweder gleich der im Blut oder etwas geringer und ergab Werte zwischen 32 und 38 mm. Der aktuelle Kohlensäuregehalt betrug 49,5, 56, 58,5, 54,9, 56,0 und 58,5. In dem Verlauf der Bindungs-

kurve ließ sich gegenüber den bisher mitgeteilten ein deutlicher Unterschied nicht erkennen. Das Eiweiß übte keine merkbare Pufferwirkung aus.

Meningitis tuberculosa:

CO_2-Spannung . . .	10,1	31,7	73,7
CO_2-Kapazität . . .	43,8	49,3	51,8
	46,6	46,6	
p_H	7,89	7,42	7,05
	8,11	7,40	

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 49,5. CO_2-Spannung = 33 mm.
Aktuelle p_H = 7,40 (Indicatoren)
7,40 (berechnet).

Meningitis tuberculosa:

CO_2-Spannung . . .	6,0	19,3	46,4
CO_2-Kapazität . . .	48,4	54,1	56,8
		55,4	58,0
p_H	8,05	7,68	7,31
		7,69	7,32

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 56,0. CO_2-Spannung = 32 mm
Aktuelle p_H = 7,47 (berechnet).

Meningitis tuberculosa:

CO_2-Spannung . . .	11,5	29,2	66,1	112,8	162,2
CO_2-Kapazität . . .	53,5	57,4	57,8	61,3	66,1
	55,5		62,9	62,9	69,5
p_H	7,90	7,50	7,15	6,92	6,77
	7,92		7,18	6,93	6,795

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 58,5. CO_2-Spannung = 38 mm.
Aktuelle p_H = 7,41 (berechnet).

Meningitis tuberculosa:
Aktuelle CO_2-Vol.-% = 57,0 und 54,1. CO_2-Spannung = 38 mm.
Aktuelle p_H = 7,38 (Indicatoren).

Meningitis tuberculosa:
Aktuelle CO_2-Vol. % = 58,2 und 58,8. CO_2 Spannung = 33 mm.
Aktuelle p_H = 7,48 (Indicatoren).

Meningitis tuberculosa:

CO_2-Spannung . . .	12,5	75,2
CO_2-Kapazität . . .	49,2	56.4
	51,2	
p_H	7,84	7,08
	7,85	

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 54,9 und 54,9. CO_2-Spannung = 34 mm.
Aktuelle p_H = 7,44 (Indicatoren)
= 7,43 (berechnet).

Es stand mir weiter ein Fall zur Verfügung, der klinisch das Bild einer eitrigen Meningitis bot, bei dem aber Meningokokken nicht gefunden worden waren. Trotzdem hatte der Kranke mehrere Injektionen von Meningokokkenserum erhalten, von denen schon einige gemacht waren, als ich den Liquor zum erstenmal zur Untersuchung erhielt. Die Reaktion dieses Liquors war etwas stärker als gewöhnlich, jedoch nicht auffallend

alkalisch und betrug 7,46. Dagegen war die Gesamtmenge der in dem Liquor enthaltenen Kohlensäure geringer als die in normalen Fällen gefundene, desgleichen die Kohlensäurespannung, die nur 27 und 23 mm betrug. Die zur Bindung der Kohlensäure verfügbaren alkalischen Valenzen waren also deutlich vermindert, was sich auch in dem niedrigen Verlauf der Bindungskurve zeigt. Trotzdem wurde die Reaktion dieses Liquors normal gehalten, war sogar verhältnismäßig etwas stärker basisch. Das war nur dadurch möglich, daß die Kohlensäurespannung gleichzeitig so niedere Werte hatte.

Meningitis purulenta:

CO_2-Spannung . . .	13,7	28,4	47,0	83,9	
CO_2-Kapazität . . .	41,2	46,5	46,5	49,6	
		46,2		48,9	
p_H	7,73	7,45	7,22	6,97	
		7,45		6,97	

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 44,6. CO_2-Spannung = 27 mm.

Aktuelle $p_H = \begin{matrix} 7{,}46 \text{ (Indicatoren)} \\ 7{,}45 \text{ (berechnet).} \end{matrix}$

Meningitis purulenta:

CO_2-Spannung . . .	10,9	24,2	40,8	77,9	119,0
CO_2-Kapazität . . .	41,9	44,0	48,3	49,5	51,2
		43,9	47,0	49,1	
p_H	7 83	7,499	7,298	7,01	6,81
		7,498	7,28	7,00	

Aktuelle Kohlensäure-Vol.-% = 43,6. CO_2-Spannung = 23 mm.

Aktuelle $p_H = \begin{matrix} 7{,}46 \text{ (Indicatoren)} \\ 7\ 51 \text{ (berechnet).} \end{matrix}$

Ganz erheblich andere Resultate als bisher wurden bei einem Fall von sicherer Meningitis epidemica mit positivem Kokkenbefund erhalten. Hier konnte die erste Untersuchung vorgenommen werden, bevor der Kranke eine Seruminjektion bekommen hatte. Die Wasserstoffzahl lag weit nach der sauren Seite verschoben, sie betrug 7,14 nach der Indicatorenmethode und 7,11 nach der Gasanalyse, so daß sie wohl sicher außerhalb der Grenzen der Norm stand. In Analogie mit den Verhältnissen im Blut, wo wir eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration als Acidose bezeichnen, kann man auch hier von einer Acidose sprechen. In dem untersuchten Fall war das zur Bindung von Kohlensäure verfügbare Alkali sehr stark reduziert. Die aktuellen Volumprozente der gesamten Kohlensäure betrugen nur 35,3. Dabei ist die Kohlensäurespannung im Liquor beträchtlich angestiegen, von durchschnittlich 35 auf 47. Die Acidose, die wohl zunächst durch das Auftreten von pathologischen Säuren im Blut verursacht wird, wird durch die hohe Kohlensäurespannung noch vermehrt. Die Bindungskurve verläuft abnorm tief (Abb. 2, Punkte, gestrichelte Kurve). In Analogie mit der im Blute üblichen Bezeichnung könnte man auch diese Kurve hypokapnisch nennen. Im übrigen weicht sie

aber in ihrem wenig gepufferten Verlauf nicht von dem Charakter der anderen Liquorkurven ab. Auch Parsons und Shearer haben in 2 Fällen von Meningitis epidemica mit Hilfe der Indicatorenmethode eine Acidose feststellen können. Die hier mitgeteilten Versuche bestätigen demnach die Angaben der beiden Autoren und erweitern und ergänzen sie durch Feststellung der Bindungskurve und der Hypokapnie.

Von dem Liquor desselben Kranken wurde 2 Tage später wieder eine Bindungskurve bestimmt, nachdem inzwischen mehrere Seruminjektionen in den Lumbalsack gemacht worden waren. Die Kurve verläuft jetzt deutlich höher als die erste, aber immer noch ausgesprochen hypokapnisch. Am nächsten Tage liegt die Kurve wieder höher und

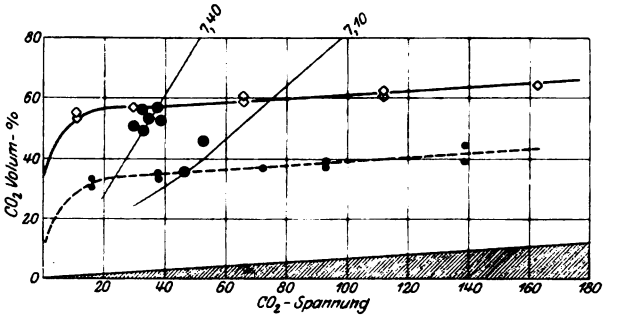


Abb. 2. Kohlensäurebindungskurven.
——◇—— Meningitis tuberculosa,
— — •— — Meningitis epidemica.

kommt damit schon in den unteren Bereich der Normalkurve *n* herein. Man kann sie diesmal eukapnisch bezeichnen. Trotzdem das Bindungsvermögen für Kohlensäure in dieser Weise gestiegen ist, ist die Reaktion nur wenig alkalischer geworden. Bei normaler Bindungskurve besteht eine Acidose von 7,15. Es nahm unter der Serumbehandlung zwar die Alkalireserve zu, d. h. das zur Bindung von Kohlensäure verfügbare Alkali, ohne daß dadurch die Reaktion beeinflußt worden wäre; denn die Kohlensäurespannung ist sogar noch weiter angestiegen und betrug nun 53 mm. Im Verlauf der nächsten Tage wurde die Reaktion noch saurer, die Wasserstoffzahl betrug jetzt nur mehr 7,06. Auch das zur Bindung von Kohlensäure verfügbare Alkali ging wieder zurück, die Bindungskurve verlief wieder hypokapnisch.

1. Tag: Meningitis epidemica:

CO_2-Spannung . . .	16,0	38,7	72,7	93,2	139,4
CO_2-Kapazität . . .	33,3	33,0	35,9	39,3	39,4
	30,4	34,9		38,4	
p_H	7,58	7,17	6,90	6,82	6,68
	7,54	7,19		6,81	

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 35,6 und 35,0. CO_2-Spannung = 47 mm.

Aktuelle $p_H = \begin{matrix} 7{,}14 \text{ (Indicatoren)} \\ 7{,}11 \text{ (berechnet).} \end{matrix}$

3. Tag:				
CO_2-Spannung . . .	11,0	35,4	64,8	
CO_2-Kapazität . . .	38,6	40,9	43,6	
	35,7	40,8	42,7	
p_H	7,799	7,297	7,04	
	7,77	7,297	7,03	
4. Tag:				
CO_2-Spannung . . .	10,4	24,2	41,4	85,1
CO_2-Kapazität . . .	36,2	45,2	45,6	50,8
	37,4	42,1		
p_H	7,797	7,51	7,27	6,98
	7,81	7,48		

Aktuelle CO_2-Vol.-% = 46,0; 46,6; 48,5. CO_2-Spannung = 53 mm.

Aktuelle $p_H = \begin{matrix} 7{,}15 \text{ (Indicatoren)} \\ 7{,}16 \text{ (berechnet).} \end{matrix}$

6. Tag:				
CO_2-Spannung . . .	18,1	48,3	79,5	
CO_2-Kapazität . . .	38,8	40,5	43,4	
	37,5	41,1	41,8	
p_H	7,58	7,14	7,03	
	7,56	7,15	7,03	

Aktuelle p_H = 7,06 (Indicatoren).

Der Einfluß der Serumbehandlung auf den Liquor war hier also nur ein vorübergehender und beschränkte sich auf das Kohlensäurebindungsvermögen. Die aktuelle Reaktion war dauernd abnorm wenig basisch. Die Acidose dieses meningitischen Liquors kann auf andere Weise noch auffälliger gemacht werden. Entnimmt man Liquor ohne besondere Kautelen, so daß die in ihm enthaltene Kohlensäure an die atmosphärische Luft abgegeben werden kann, so ergab in 8 Normalfällen die Untersuchung der Reaktion eine Wasserstoffzahl von 8,02 bis 8,44, Werte, die ganz mit den Angaben früherer Autoren übereinstimmen und eine beträchtlich geringere Wasserstoffionenkonzentration darstellen als die tatsächlich im Körper existierende. Meningitischer Liquor auf diese Weise entnommen, hatte eine Wasserstoffzahl von nur 7,25. Der Unterschied gegenüber dem Normalliquor ist so viel prägnanter. Es hängt dies mit der geringen Kohlensäurekapazität dieses Liquors zusammen. Die Kohlensäureabgabe an die Luft ist kleiner als bei dem Normalliquor; die Reaktion kann entsprechend dem geringeren Gehalt an flüchtiger Säure nicht in gleichem Maße alkalischer werden. Bei einem acidotischen Liquor mit normalem Bindungsvermögen müßte allerdings die Differenz gegenüber der Normalreaktion bei Untersuchung ohne Schutz von Kohlensäureverlust verschwinden.

Die aktuelle Wasserstoffzahl des Liquors erweist sich wegen der schlechten Pufferung als sehr empfindlich gegen Kohlensäureverlust. Wenn die Kohlensäurespannung des Liquors meist etwas geringer

gefunden wird als die des Blutes, so könnte dies davon herrühren, daß Spuren von Kohlensäure an das Paraffinöl oder die Schlauchleitung abgegeben werden. Daß die aktuelle Reaktion mit beiden Methoden etwas basischer als die des arteriellen Blutes gefunden wird, hat vielleicht darin seine Ursache. Abnorm hohe Kohlensäurespannungen, Acidose und Hypokapnie werden natürlich von dieser Fehlerquelle nicht betroffen.

Zusammenfassung.

Die aktuelle Reaktion des normalen Liquor cerebrospinalis ist etwas alkalischer als die des Blutes, im Mittel ca. 7,40. Die Kohlensäurespannung im Liquor ist gleich oder etwas niedriger als die im Blut herrschende.

Die Kohlensäurebindungskurve ist bedeutend weniger als die des Blutes und sogar noch etwas weniger gepuffert als die des Serums.

Tabes dorsalis scheint ohne Einfluß auf die Reaktion und das Kohlensäurebindungsvermögen des Liquors zu bleiben. Ebenso werden diese Eigenschaften durch eine tuberkulöse Entzündung der Meningen nicht verändert.

In einem Fall von purulenter Meningitis ohne bakteriologischen Befund war die Kohlensäurespannung und das Kohlensäurebindungsvermögen etwas vermindert bei normaler Reaktion.

Bei der Meningitis epidemica fand sich eine Acidose im Liquor und Verminderung der aktuellen Reaktion bis auf 7,06. Die Bindungskurve verlief stark hypokapnisch. Dagegen war die Kohlensäurespannung erhöht, einmal bis auf 53 mm angestiegen.

Ein Beitrag zur Lehre von der Blutgerinnung.

Von

Albert Funck.

(Aus dem Laboratorium der Medizinischen Universitäts-Klinik zu Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 22. August 1921.)

Die früheren Bearbeiter der Frage nach dem Wesen der Blutgerinnung standen einer derartigen Fülle von schwer zu erklärendem und sich widersprechendem Tatsachenmaterial gegenüber, daß die Lösung des Problems nur durch Zuhilfenahme einer Fermenttheorie, die Alexander Schmidt inaugurierte, möglich schien. Mit Hilfe des Thrombin-„Fermentes" war eine gewisse Einheitlichkeit in der Beurteilung der verschiedenen Beobachtungen zu erzielen.

Die neueren Untersuchungen von Nolf[1]), Stromberg[2]), Rettger[3]) u. a. erwiesen nun bei der Fibrinogengerinnung durch Thrombin einen quantitativen Verbrauch des Thrombins, der mit dem Gesetz von Schütz-Borissow, nach welchem die in der Zeiteinheit umgewandelten Substanzmengen den Quadratwurzeln der Konzentration des Fermentes proportional sind, nicht in Einklang zu bringen war. Ferner ergaben diese Untersuchungen den negativen Einfluß der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Gerinnung einer Lösung von Fibrinogen, die mit Thrombin versetzt wurde, und brachten damit einen weiteren Beweis gegen die chemische Natur der Fibrinogengerinnung durch das Thrombin und folglich auch gegen eine Fermenttheorie.

Vorliegende Arbeit, die auf Anregung von Professor Stuber unternommen wurde, soll die moderne Ansicht stützen, daß die Verwertung der Ergebnisse und die Anwendung physikalisch-chemischer und kolloidchemischer Arbeitsmethoden ein gangbarer Weg zur Lösung des Gerinnungsproblems ohne Zuhilfenahme eines Fermentes ist.

Den Ausgangspunkt der Untersuchungen bildeten die prinzipiellen Anschauungen von Nolf[4]), Howell, Friedemann und Friedenthal[5]), Rettger[6]) u. a., daß das Wesen der Gerinnung in einer gegenseitigen Fällung von entgegengesetzt geladenen Kolloiden bestehe; ferner die grundsätzliche Auffassung Hekmas

[1]) Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **10**, 273.
[2]) Diese Zeitschr. **37**, 171.
[3]) Americ. journ. of physiol. **24**. 1905, zit. nach Biochem. Zentralbl. **9**. 1909/10.
[4]) Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **10**, 273.
[5]) Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **3**. 1906.
[6]) Diese Zeitschr. **62**, 161.

des Fibrinogens als Alkalihydrosol und seine Anschauung, daß das Zustandekommen der Gerinnung dem Vorgang des Übergangs gerinnbarer Eiweißkörper aus dem Alkali-Hydrosolzustand (Fibrinogen) in den Gelzustand (Fibrin) zu verdanken ist.

Auf die speziellen Anschauungen der zuerst genannten Forscher über Natur und Bedeutung der einzelnen Komponenten, wie sie in Wirklichkeit bei der Gerinnung den Ausschlag geben, soll in späteren Arbeiten eingegangen werden, da es uns hier nur darauf ankommt, die Grundlage für die prinzipielle Anwendungsmöglichkeit der Theorie von der Kolloidfällung auf die Fibrinogengerinnung zu untersuchen.

Da gegenseitige Fällung von Kolloiden entgegengesetzte elektrische Ladung der betreffenden Kolloide voraussetzen, war die Frage zu beantworten: Wie verhält es sich mit der elektrischen Ladung des Fibrinogens? Um so mehr wandten wir uns zuerst dem Fibrinogen zu, als die bisherigen kataphoretischen Untersuchungen dieses Eiweißkörpers ein negatives Resultat ergeben hatten.

Frank[1]) kam mit Hilfe von Kohlrauschs kleinem Apparat zu dem Ergebnis, daß ein konstanter wahrnehmbarer Unterschied zwischen den verschiedenen Stadien der Gerinnung nicht entdeckt werden kann. Resch[2]) untersuchte mit Hilfe des Michaelisschen Überführungsapparates die elektrische Ladung des Fibrinogens und kam zu dem Schluß, daß das Fibrinogen weder eine Anoden- noch eine Kathodenwanderung zeige, daß es sich also elektrisch neutral verhalte. Für das Thrombin zeigte er eine anodische Wanderung. Seine Untersuchungen wurden angestellt in einem Milieu von p_H 5 bis p_H 8. Wir werden sehen, daß seine Beobachtungen mit unseren Ergebnissen nicht im Gegensatz stehen, daß seine Schlußfolgerungen jedoch falsch waren.

Das zur Untersuchung gekommene Fibrinogen wurde nach der Methode von Hammarsten dargestellt. Scharf zentrifugiertes Pferdeoxalatplasma wurde nach 20stündigem Verbleib bei 0° filtriert im eisgekühlten Raum, Versetzen des Filtrates mit dem halben Volum konzentrierter, entkalkter Kochsalzlösung, Filtration, Versetzung des Filtrates mit so viel konzentrierter Kochsalzlösung, daß „auf je 1 Liter filtriertes Oxalatplasma insgesamt $1^1/_2$—2 Liter Kochsalzlösung kommen". Die Fibrinogenlösungen gerannen weder spontan noch mit einem Kalksalz allein. Die Lösungen kamen immer frisch zur Verwendung und gerannen mit Thrombin in 25—35 Minuten.

Die Thrombinlösung wurde nach der Schmidtschen Methode gewonnen. Serum von spontan gewonnenem frischen Blut zentrifugiert, mit der 20fachen Menge 96proz. Alkohols versetzt, Niederschlag abfiltriert, im Exsiccator getrocknet, in der Reibschale zu Pulver zer-

[1]) Americ. journ. of physiol. **14**. 1905; zit. nach Biochem. Zentralbl. **4**. 1905/06.
[2]) Diese Zeitschr. **18**, 297.

rieben, 1 g des Pulvers mit 100 ccm destillertem Wasser versetzt und 24 Stunden extrahiert.

Zur Bestimmung der Wanderungsrichtung kam der Überführungsapparat nach Michaelis in Anwendung.

Sämtliche Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Vor unserer Untersuchung des elektrischen Verhaltens des Fibrinogens stellten wir folgende Überlegungen an: Ein positives kataphoretisches Ergebnis kann gegebenenfalls erst dann eintreten, wenn das Fibrinogen-Eiweißmolekül dissoziiert ist, d. h. wenn es sich in Lösung befindet. Mit anderen Worten: Die elektrische Wanderung wird nur außerhalb des Flockungsbereiches des Fibrinogens eintreten.

Es galt also zuerst, die Breite des Flockungsbereiches des Fibrinogens zu untersuchen, um dann die Überführungsversuche außerhalb dieses Bereiches vorzunehmen.

Zu diesem Zweck wurde das Prinzip der h-Reihe mit Salzkonstanz von Michaelis[1]) und Rona[1]) angewandt.

Versuch 1: Bestimmung der Flockungsgrenze nach der sauren Seite.
10 gleichweite Reagensgläser wurden mit folgenden Lösungen beschickt:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$^n/_{10}$-Na-Acetat . .	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
$^n/_{100}$-Essigsäure . .	0,1	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2				
$^n/_{10}$-Essigsäure . .	—	—	—	—	—	—	0,64	1,28	2,56	5,12
dest. Wasser . . .	6,9	6,8	6,6	6,2	5,4	3,8	6,36	5,72	4,44	1,88

Zum Schlusse wurde in jedes Röhrchen möglichst schnell aus einer Vollpipette je 1 ccm frisches, d. h. salzhaltiges Fibrinogen gefüllt. Die entstehenden Trübungen — Nr. 4—8 sofort, Nr. 1—3 nach einigen Minuten — ergaben folgendes Bild:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
p_H	6,7	6,4	6,1	5,8	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8
Trübung . .	+	+	+	+(+)	++	++(+)	+++	++	—	—

Die Zahl der Kreuze deutet die Stärke der Trübungen an. Röhrchen Nr. 9 und 10 waren nach 24 Stunden noch klar. Die Zahlen für p_H bei Röhrchen Nr. 1—8 entsprechen den Angaben von Michaelis (Praktikum S. 51). Für Röhrchen 9 und 10 wurden die Zahlen entsprechend eingesetzt.

Versuch I zeigt, daß die Flockungsgrenze des frischen Fibrinogens bei p_H von etwa 4 liegt.

Versuch 2: Bestimmung der Flockungsgrenze nach der alkalischen Seite.
Der Versuch wurde in entsprechender Weise angesetzt.

Nr.	1	2	3	4	5	6	7
$^n/_{10}$-Na-Acetat	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
$^n/_{100}$-NaOH	0,2	0,1					
$^n/_{1000}$-NaOH	—	—	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
dest. Wasser	7,8	7,9	7,5	7,6	7,7	7,8	7,9
Fibrinogen	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Trübung	—	+ (—)	+ (—)	+ (—)	+	+	+

[1]) Diese Zeitschr. **27**, 38 und Michaelis, Praktikum der physikalischen Chemie 1921, S. 44 und S. 51 ff.

Die Trübungen entstanden bei Röhrchen Nr. 4—7 sofort, Nr. 3 nach einigen Minuten, Nr. 2 nach 3—4 Stunden. Nr. 1 war nach 24 Stunden noch klar.

Die Bestimmung von p_H der alkalischen Flockungsgrenze wurde nach der Indikatorenmethode vorgenommen. Genauere elektrometrische Messungen beabsichtigen wir in späteren Arbeiten nachzuholen.

Die Flockungsgrenze nach der alkalischen Grenze ergab sich bei p_H von etwa 9. Der Flockungsbereich des salzhaltigen frischen Fibrinogens ist sehr breit und liegt also zwischen p_H 4 und p_H 9.

Versuch 3: Kataphoretische Untersuchung des Fibrinogens bei $p_H < 4$.

Seitenflüssigkeit: 8,0 $^n/_{10}$-Essigsäure
1,0 dest. H_2O.

Methylorange färbt rotgelb mit stark rotem Einschlag. Die Untersuchung geschieht also in einem Milieu von p_H etwa 3,5.

Mittelflüssigkeit: 8,0 $^n/_{10}$-Essigsäure
1,0 dest. H_2O
1,0 Fibrinogen.

Durchströmungsdauer: 1 Stunde (Gleichstrom von 220 Volt).

Wegen der vollkommenen Klarheit der Mittelflüssigkeit und Unsichtbarkeit des Grenzspiegels, dessen Verschiebung um einige Millimeter nach der Kathode bzw. Anode bei trüben oder gefärbten Mittelflüssigkeiten ohne weiteres zu sehen ist, wurden die Kathoden- bzw. Anodenflüssigkeiten nach Abschluß des Versuches (Schluß der Hähne *A* und *B*, Öffnen des Stromes) mit Sulfosalicylsäure auf Eiweiß untersucht. (Da Resch nicht näher angibt, wie er zu seiner Schlußfolgerung der ausbleibenden Wanderung des Fibrinogens gekommen ist, ist anzunehmen, daß er die Methodik des von ihm untersuchten Thrombins angewandt hat, wobei er die Seitenflüssigkeiten auf eventuell vorhandenes Thrombin untersuchte, indem er bestimmte Mengen von Kathoden- bzw. Anodenflüssigkeit mit Fibrinogen zusammenbrachte und entsprechende Gerinnung beobachtete. Die Untersuchung der Seitenflüssigkeiten auf Fibrinogen mit Hilfe von Thrombin schien uns bei den geringen Mengen gewanderten Fibrinogens wegen der zu starken Verdünnung der etwaigen Fibrinogenlösung nicht angängig.)

Kontrollen: 1. Eiweißuntersuchung der Seitenflüssigkeiten vor dem Versuch nach Einfüllen der Mittelflüssigkeit und geschlossenen Hähnen *A* und *B*.

2. Nach Abschluß des Versuches wurde der ganze Apparat von neuem gefüllt, ohne Strom durchzuschicken. Die Hähne *A* und *B* wurden geöffnet und der Apparat eine Stunde lang stehengelassen, um den Einfluß eventueller Erschütterungen oder sonstiger Versuchsfehler auszuschalten.

Es zeigte sich eine deutlich positive Sulfosalicylreaktion in der Kathodenflüssigkeit des Versuches. Anodenflüssigkeit und Kontrollen hatten negativen Befund.

Ergebnis: Fibrinogen wandert bei p_H 3,5 zur Kathode.

Versuch 4: Kataphoretische Untersuchung des Fibrinogens bei $p_H > 9$.

Seitenflüssigkeit: 1,0 $^n/_{100}$-NaOH
7,0 dest. Wasser.

Trinitrobenzol färbt rotorange, Benzopurpurin rosa, p_H also etwa 14.

Mittelflüssigkeit: 1,0 $^n/_{100}$-NaOH
7,0 dest. Wasser
1,0 Fibrinogen.

Dieselbe Anordnung und Kontrollen wie bei Versuch 3.

Deutlich positive Sulfosalicylreaktion in der Anodenflüssigkeit des Versuches. Kathodenflüssigkeit und Kontrollen zeigten negativen Befund.

Ergebnis: Fibrinogen wandert bei p_H 14 zur Anode.

Das Fibrinogen hat — wenigstens in seiner salzhaltigen Lösung — die Besonderheit eines ausgedehnten Flockungsbereiches. Kataphoretische Untersuchungen innerhalb dieses Bereiches, wie sie von Resch vorgenommen wurden, und wie von uns nachgeprüft werden wird. können entsprechend unseren früheren Überlegungen zu einem negativen Resultat führen. Die Schlußfolgerung von Resch, „das Fibrinogen zeigt keine Wanderung, es verhält sich elektrisch neutral", ist, wie ersichtlich, zu eng gefaßt und nicht berechtigt. Über Untersuchungen am völlig salzfrei dialysierten Fibrinogen werden wir demnächst berichten.

Iscovescos[1]) Untersuchungen ergaben den Befund, daß das Blutplasma ein Gemisch von den verschiedensten elektropositiven und elektronegativen Eiweißkörpern darstellt. Man muß sich also vorstellen, daß die Resultante der verschiedenen Ladungen der Plasmakolloide das Lösungsgleichgewicht der verschiedenen Körper garantiert, welche das Fibrin bilden. Es lag daher der Gedanke nahe, rein dargestellte und isolierte Bestandteile des Blutplasmas in Erwartung einer eventuellen Gerinnung mit Fibrinogen in verschiedenen Mengenverhältnissen zusammenzubringen, im besonderen Hinblick darauf, daß das Thrombin seiner Darstellungsweise nach vorwiegend als Albumin-Globulingemisch zu betrachten ist. Es wurden untersucht: Globulin, Albumin, Fibrino-Globulin, ohne vorläufig deren elektrische Beschaffenheit zu berücksichtigen.

Darstellungstechnik.

Das Globulin wurde durch Halbsättigung des Blutserums mit Ammonsulfat gefällt, der Niederschlag durch Umfällen gereinigt und bis auf Spuren salzfrei dialysiert (Dialysedauer 8 Tage unter Toluol).

Das im Filtrat befindliche Albumin wurde gewonnen durch Ganzsättigung mit Ammonsulfat in Substanz, Niederschlag abfiltriert, in H_2O gelöst, 2 mal in dieser Weise umgefällt und bis auf Spuren salzfrei dialysiert (Dialysedauer 8 Tage unter Toluol).

Versuch 5a.
Globulin.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Globulin	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	24 Stunden
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	20 „
5	1	30 „	12 „

Versuch 5b.
Globulin filtriert.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Globulin filtriert	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	24 Stunden
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	24 „
5	1	30 „	15 „

[1]) Soc. biol. **60** und **61**; zit. nach Biochem. Zentralbl. **5**. 1906/07; **6**. 1907.

Versuch 5c.
Thrombinkontrolle.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Thrombin	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	35 Minuten
2	1	10 „	35 „
3	1	15 „	30 „
4	1	20 „	25 „
5	1	30 „	25 „

Versuch 5d.
H_2O-Kontrolle.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	aq. dest.	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	—
3	1	15 „	—
4	1	20 „	—
5	1	30 „	—

Versuch 6a.
Albumin.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Albumin	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	24 Stunden
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	5 „
5	1	30 „	3 „

Versuch 6b.
Albumin filtriert.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Albumin filtriert	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	24 Stunden
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	24 „
5	1	30 „	15 „

Thrombin- und Wasserkontrollen wie bei Versuch V.

Versuch 7a.
Fibrino-Globulin.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Fibrino-Globulin	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	—
3	1	15 „	—
4	1	20 „	—
5	1	30 „	—

Versuch 7b.
Fibrino-Globulin (filtriert).

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Fibrino-Globulin (filtriert)	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	—
2	1	10 „	—
3	1	15 „	—
4	1	20 „	—
5	1	30 „	—

Thrombin- und Wasserkontrollen wie bei Versuch V.

Das Fibrino-Globulin wurde erhalten nach Reye durch Drittelsättigung des Serums mit Ammonsulfat, Filtrieren, Reinigen des Niederschlages durch Umfällen und Dialysieren.

Die Wasserkontrollen wurden angesetzt zur Ausschaltung der Wirkung eines reinen Verdünnungsfaktors.

Die Gerinnungen mit Globulin beginnen nach 4 Stunden sich wieder zu lösen und sind nach 18 Stunden flüssig, während beim Albumin (und Thrombin) die Verflüssigung erst nach etwa 30 Stunden beginnt.

Ergebnis: Globulin- und Albuminlösungen rufen, dem Fibrinogen in entsprechenden Mengenverhältnissen zugesetzt, Gerinnung hervor. Dem Fibrino-Globulin fehlt diese Fähigkeit.

Mit Fibrinogenlösungen, die älter als 4—5 Tage alt sind, konnte — bei positiven Thrombinkontrollen — keine Gerinnung mehr mit Albumin und Globulin hervorgerufen werden.

Der Einwand, daß bei Anwendung der aus dem Blutserum isolierten Eiweißkörper doch noch ein spezifisches Gerinnungsferment im Spiele sein könne, dürfte nach unserer Ansicht durch folgenden positiven Gerinnungsversuch mit Albumin aus Hühnereiweiß widerlegt sein.

Darstellungstechnik: Nach Auflösung des Hühnereiweiß in Wasser siehe bei Albumindarstellung.

Versuch 8a.
Albumin aus Hühnereiweiß.

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Albumin aus Hühnereiweiß	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	24 Stunden
2	1	10 „	24 „
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	24 „
5	1	30 „	12 „

Versuch 8b.
Albumin a. Hühnereiweis (filtriert).

Röhrchen	Fibrinogen ccm	Albumin aus Hühnereiweiß (filtriert)	Gerinnungszeit
1	1	5 Tropfen	24 Stunden
2	1	10 „	24 „
3	1	15 „	24 „
4	1	20 „	20 „
5	1	30 „	15 „

Thrombin- und Wasserkontrollen wie bei Versuch V.

Das Albumin aus Eiereiweiß hat ebenfalls die Fähigkeit, mit Fibrinogen zusammen Gerinnung hervorzurufen.

Der negative Erfolg des Fibrino-Globulins steht im Einklang mit der Tatsache, daß in dem nach Hammarsten dargestellten Fibrinogen sich auch Fibrino-Globulin befindet, ohne daß eine spontane Gerinnung einträte. Auch muß nach unseren Ergebnissen die spezielle Ansicht Nolfs abgelehnt werden, welcher den Übergang des Fibrinogens in Fibrin durch gegenseitige Fällung von Fibrinogen und Fibrino-Globulin (er nennt es Hepatothrombin) erklären will.

Unsere Befunde sprechen eher für Huiskamps[1]) Anschauung, daß das Fibrino-Globulin mit der Gerinnung nichts zu tun hat.

Jedoch kann diese Frage wohl vorläufig nicht mit Bestimmtheit beantwortet werden, da der Übergang des Fibrinogens in Fibrin, wie er sich im Blute abspielt, sich in einem Milieu der verschiedensten Kolloide von bestimmten elektrischen Charakteren vollzieht, und ein Entladungsoptimum sich erst bei einer bestimmten Ladungsresultante ergibt, an der wohl sämtliche vorhandenen elektrisch geladenen Kolloide beteiligt sind.

Die Unfähigkeit des Fibrino-Globulins, mit Fibrinogen zusammen Gerinnung hervorzurufen, d. h. die gleichsinnige Ladung dieser beiden Körper, gestattet auch, den Einwand zu widerlegen, daß wir bei unseren

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 182 und **46**, 273.

Überführungsversuchen die Ladung des dem Fibrinogen beigemischten Fibrino-Globulins und nicht des Fibrinogens selbst bewiesen hätten. Die positive Sulfosalicylreaktion konnte höchstens herrühren von Fibrinogen + Fibrino-Globulin.

Untersuchungen über den elektrischen Charakter des Fibrinogens innerhalb des Flockungsbereiches, über den Ladungssinn unserer angewandten Lösungen von Globulin, Albumin, Fibrino-Globulin usw. und namentlich über Flockungsbereich und elektrischen Charakter des dialysierten, salzfreien Fibrinogens sind im Gange.

Zusammenfassung.

1. Das frische, nichtdialysierte, also stark salzhaltige Fibrinogen hat einen Flockungsbereich von p_H 4 bis p_H 9.

2. Bei $p_H < 4$ wandert das Fibrinogen nach der Kathode; bei $p_H > 9$ zur Anode.

3. Gereinigte und bis auf Spuren salzfrei dialysierte Lösungen von Serum-Globulin, Serum-Albumin und aus Eiereiweiß hergestelltem Albumin rufen mit Fibrinogen Gerinnung hervor.

4. Fibrino-Globulin ruft mit Fibrinogen keine Gerinnung hervor.

5. Die prinzipielle Annahme, daß beim Übergang des Fibrinogens in Fibrin der elektrischen Ladung der zusammenwirkenden Faktoren im Sinne einer Kolloidentladung eine Bedeutung zukommt, erhält dadurch eine weitere Stütze.

Über die lipolytische Fähigkeit der weißen Blutkörperchen.

Von

Friedrich Nees.

(Aus dem Laboratorium der Medizinischen Klinik in Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 22. August 1921.)

Bergel hat in einer größeren Anzahl von Arbeiten zu erweisen versucht, daß die Lymphocytose, die bei gewissen Krankheiten, so bei Tuberkulose, bei Lepra, bei Abdominaltyphus im Anfangsstadium auftritt, als eine, wenn auch unzureichende Heilreaktion des Körpers aufzufassen sei, bei der die Lymphocyten durch ein in ihnen enthaltenes Ferment eine fettspaltende Wirkung auf die fetthaltigen Substanzen, so bei Tuberkulose auf die Tuberkelbacillen, ausüben, die ja neben Eiweiß auch Fettsäure, Neutralfett und wachsähnliche Substanzen enthalten. Bergel stützt seine Behauptung auf eine Reihe von Experimenten, bei denen er lymphocytenhaltiges Material, nämlich tuberkulösen Eiter- und Lymphdrüsenbrei auf Fettsubstanzen im Brutschrank ca. 24 Stunden einwirken ließ. Als günstigstes Material bezeichnet er Bienenwachs mit einem Schmelzpunkt von 63—64°, das er bei einer Temperatur von 52° ca. 24 Stunden der Einwirkung von lymphocytärem Eiter aussetzte. Dabei sei eine zentrale Dellenbildung mit einer Verflüssigung in der Umgebung wahrzunehmen gewesen, bei Erkaltung ein wallartig aufgeworfener Rand in der Umgebung der Dellenbildung. An anderer Stelle machte er die Versuche bei 43° mit demselben Wachs. Immer sei dieselbe Veränderung festzustellen gewesen. Dagegen habe er bei rein leukocytärem, bei Staphylo- und Streptokokkeneiter nicht die geringste Veränderung der Wachsplatten wahrgenommen.

Um die Fermentwirkung der Lymphocyten nachzuprüfen und festzustellen, wie sich leukocytärer Eiter gegenüber den Fettsubstanzen verhält, auf welche die Lymphocyten diese verdauende Wirkung haben, wurde von mir eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Ergebnis im folgenden Erwähnung finden soll.

Das mir zur Verfügung stehende Wachs hatte einen Schmelzpunkt von $63^1/_2$° C. Auf die erste aus diesem Wachs gegossene Platte brachte

ich von einem Patienten mit Empyem frisch entnommenen Eiter derart, daß ich 9 Tropfen an der Peripherie anbrachte. Bakteriologisch-mikroskopisch wurde festgestellt, daß der Eiter rein leukocytär war und Streptokokken in großer Masse enthielt. Die Platte wurde in einer feuchten Kammer 24 Stunden bei 43° C im Brutschrank gelassen. Das Ergebnis war: An 2 Stellen war eine eben erkennbare Andauung zu sehen, die übrigen Stellen zeigten keine Reaktion.

Auf Platte 2 setzte ich Eiter ebenfalls aus einem Empyem entnommen, er war auch rein leukocytär und enthielt Staphylo- und Streptokokken, man behandelte diese Platte auf dieselbe Weise. Nach 24 Stunden war hier an 3 Stellen eine Andauung ebenfalls festzustellen; die anderen Eitertropfen waren eingetrocknet und an ihrer Stelle nach ihrer Abspülung mit kaltem Wasser nichts von einer Einwirkung auf das Wachs festzustellen.

Platte 3 wurde mit einer Reinkultur von Staphylokokken, Platte 4 von Streptokokken beschickt und bei 43° 24 Stunden im Brutschrank stehenlassen. Hier konnte man keine Veränderung des Wachses feststellen.

Die 5. Platte wurde mit tuberkulösem, also rein lymphocytärem Eiter aus einer exstirpierten Niere angesetzt. Hier war an mehreren Stellen eine Andauung eben bemerkbar, an 2 Stellen etwas mehr, nämlich eine leichte Vertiefung mit wallartigem Rand. Der Eiter enthielt neben den zahlreichen Lymphocyten noch einige Leukocyten und große mononucleäre Zellen.

Auf die 6. Platte wirkte Eiter aus einem Empyem einer schwer tuberkulös erkrankten Frau; er war rein lymphocytär. Nach 24 Stunden konnte man an 5 Stellen der Wachsplatte zwar eine Andauung des Wachses deutlich erkennen, aber die von Bergel beschriebene, zentrale Dellenbildung fehlte auch bei diesem Versuch wie bei den vorhergehenden.

Auf die 7. Platte brachte ich Eiter von einem Patienten mit diffuser Peritonitis, nach perforierter Appendicitis; mikroskopisch waren in dem Eiter nur Trümmer von Blutkörperchen zu erkennen; die Autolyse der Blutkörperchen war da schon zu weit vorgeschritten. Diese Platte zeigte keine Veränderung.

Dann stellte ich eine 8. Platte mit einigen Tropfen eines Perikardexsudates von einem Jungen mit Polyserositis 48 Stunden bei 43° in einer feuchten Kammer in den Brutschrank. Der Eiter war rein lymphocytär. Hier waren an mehreren Stellen tiefere Dellen gebildet, vom Rande her wurden die mit Eiter besetzten Stellen von dem freien Wachs abgehoben.

Mit einigen Tropfen aus dem Pleuraexsudat desselben Patienten, das rein leukocytär war, beschickte ich eine 9. Platte. 4 Stellen zeigten eine eben noch erkennbare Andauung 4 Stellen waren deutlich angedaut mit einer zentralen Vertiefung.

Platte	Material	Brutschrank		Platte aus	Resultat
		Temp. ° C.	Zeit Std.		
1	Eiter aus Empyem, rein leukocytär Streptokokken.	43	24	Bienenwachs	An 2 Stellen leichte Andauung.
2	Eiter aus Empyem, rein leukocytär Staphylo- und Streptokokken.	43	24	„	3 Stellen eben erkennbare Andauung, keine Dellenbildung.
3	Reinkultur von Staphylokokken.	43	24	„	Keine Veränderung des Wachsspiegels.
	Reinkultur von Streptokokken.	43	24	„	Keine Veränderung.
5	Vorwiegend lymphocytärer Eiter aus tuberkulöser Niere mit einzelnen Leukocyten und großen mononuclären Zellen.	43	24	„	An 2 Stellen leichte Vertiefung mit wallartigem Rand.
6	Rein lymphocytärer Eiter aus tuberkul. Empyem.	43	24	„	An 5 Stellen deutliche Andauung.
7	Eiter bei Peritonitis nach perforiert. Appendicitis, nur Zelltrümmer.	43	24	„	Negativ.
8	Rein lymphocytär aus Perikardexsudat bei Polyserositis	43	48	„	An mehreren Stellen Dellen mit wallartig aufgeworf. Rändern.
9	Einige Tropfen Pleuraexsudat, rein leukocytär.	43	48	„	An 4 Stellen deutliche Andauung mit zentraler Vertiefung.
10	Eiter, rein lymphocytär aus tuberkulösen Abscessen von Kaninchen.	43	48	„	An 2 Stellen Andauung.
11	Vorwiegend Eiter, leukocytär aus Empyem.	43	24	„	An 6 Stellen deutlich angedaut.
12	Eiter, rein leukocytär aus Empyem.	43	24	„	An 4 Stellen angedaut, an 2 Stellen deutliche Dellen.
13	Eiter gemischt leukocytär-lymphocytär.	43	24	„	Keine Reaktion.
14	Eiter, lymphocytär aus tuberkulösem Abscess.	52	24	„	Keine Reaktion.
15	Leukocytärer Eiter.	52	24	„	Keine Reaktion.
16	Lymphocytärer Eiter aus tuberkulöser Hodenfistel.	52	24	„	Keine Reaktion.
17	Leukocytärer Eiter.	39	24	„	An 5 Stellen deutliche Andauung.

Platte	Material	Brutschrank: Temp. ° C.	Brutschrank: Zeit Std.	Platte aus	Resultat
18	Eiter, leukocytär (wie bei 17).	43	24	Halb Wachs, halb Paraffin.	Keine Reaktion.
19	Rein lymphocytärer Eiter.	43	24	Bienenwachs, nach Benda gefärbt.	Geringer, dumpfer Farbenumschlag, aber sowohl mit frischem Material als auch mit gekochtem.
20	Eiter, rein lymphocytär aus Kaninchenabsceß.	43	24	Bienenwachs, mit alizarinsulfosaur. Natrium schwarzbraun gefärbt.	Geringe Hellerfärbung jedoch auch mit gekochtem Eiter.
21	Rein lymphocytär.	43	24	Bienenwachs, mit Neutralrot gef.	Kein Farbenumschlag.
22	Leukocytärer Eiter.	35	24	Bienenwachs, mit Methylrot gef.	Kein Farbenumschlag, leichte Andauung
23	Rein lymphocytär.	38	36	Bienenwachs.	3 Stellen deutliche Andauung.
24	Eiter aus Empyem bei Lungenphthise lymphocyt.	38	36	Bienenwachs, mit alizarinsulfosaur. Natrium gefärbt.	Kein Farbenumschlag, deutliche Andauung.
25	Wie bei 24.	38	24	Bienenwachs, mit Methylrot gef.	Kein Farbenumschlag, aber Andauung.
26	Leukocytär.	40	24	$^2/_3$ Fett, $^1/_3$ Wachs.	6 Stellen Umschlag von orangegelb in intensiv dunkelrot; deutliche Andauung.
27	Lymphocytär. Eit.	39	24	$^1/_2$ Wachs, $^1/_2$ Fett, mit Methylrot orangegelb gef.	Kein Farbenumschlag, an 4 Stellen Andauung.
28	Desgl.	39	24	Desgl.	An 4 Stellen leichte Andauung; an 1 Stelle leichte Dellenbildung.
29	Leukocytär.			Bienenwachs, nach Benda gefärbt.	Kein Farbenumschlag, an 6 Stellen deutliche Andauung.
30	Leukocytär aus Karbunkel.	40	24	$^2/_3$ Fett, $^1/_3$ Wachs mit Methylrot gefärbt.	Sämtliche 4 Stellen mit deutlichem Farbenumschlag in intensiv rot.
31	Leukocytär aus einem Absceß.	40	24	Desgl.	4 Stellen mit deutlichem Farbenumschlag und deutlicher Andauung.
32	Leukocytär. Eiter.	39	24	$^1/_2$ Fett, $^1/_2$ Wachs mit Methylrot gefärbt.	An 3 Stellen deutlicher Farbenumschlag.

Platte	Material	Brutschrank Temp. ° C.	Brutschrank Zeit Std.	Platte aus	Resultat
33	Leucocytärer Eiter	39	24	1/3 Fett, 2/3 Wachs mit Methylrot gefärbt.	An 4 Stellen Farbenumschlag und Dellenbildung.
34	Lymphocytär. Eiter	39	24	2/3 Fett, 1/3 Wachs mit Methylrot gefärbt.	Deutlicher Farbenumschlag und deutliche Andauung.
35	Lymphocytär. Eiter	39	24	1/2 Fett, 1/2 Wachs mit Methylrot gefärbt.	Deutlicher Farbenumschlag von orangegelb in intensiv dunkelrot und deutliche Andauung.

Die 10. Platte war der Einwirkung von lymphocytärem Eiter aus tuberkulösen Abscessen von Kaninchen ausgesetzt, denen Tuberkelbacillenreinkulturen subcutan injiziert waren; 48 Stunden stand die Platte im Brutschrank bei 43°. Nur an 2 Stellen war eine Einwirkung des Eiters zu erkennen, nämlich eine eben bemerkbare Andauung.

Bei der 11. Platte mit vorwiegend leukocytärem Eiter aus einem Empyem konnte ich nach 24 Stunden bei einer Temperatur von 43° 6 Stellen als deutlich angedaut bezeichnen.

Die 12. Platte zeigte nach der Einwirkung von rein leukocytärem Eiter aus einem Empyem einer anderen Patientin vier oben angedaute Stellen, an 2 Stellen eine tiefere Dellenbildung.

Auf der 13. Platte konnte mit gemischt leukocytär-lymphocytärem Eiter aus einem Empyem keine Reaktion erzielt werden.

Auf die 14. Platte ließ man Eiter aus einem tuberkulösen Abscеß von einem Kaninchen, dem auch Reinkulturen von Tuberkelbacillen injiziert waren, bei 52° 24 Stunden einwirken. Der Versuch war ohne positives Ergebnis; offenbar wurden hier die Lymphocytenfermente durch die hohe Temperatur unwirksam gemacht.

Auf der 15. Platte war bei dieser Temperatur mit leukocytärem Eiter aus einem Empyem nach 24 Stunden Einwirkung keine Reaktion wahrzunehmen.

Die 16. Platte zeigte bei einer Temperatur von 52° unter dem Einfluß von Eiter aus einer tuberkulösen Hodenfistel ebenfalls nicht die geringste Andauung des Wachses.

Aus einem incidierten Karbunkel entnommenen Eiter brachte ich auf die 17. Platte und ließ ihn bei 39° 24 Stunden auf die Wachsplatte einwirken. Dieser leukocytäre Eiter bewirkte an 5 Stellen eine deutliche Andauung des Bienenwachses.

Ausgehend von dem Gedanken, daß ein Fett mit einem niederen Schmelzpunkt, welcher der Körpertemperatur näher liegt, leichter zu

beeinflussen sei, stellte ich eine Mischung von Wachs und Paraffin her. In einem kleinen Porzellantiegel, etwa halb gefüllt, wurden 5 Tropfen Paraffinum liquidum dem geschmolzenen Wachs zugesetzt; der Schmelzpunkt zeigte sich bei 5 Versuchen bei $60^1/_2$° C. Ein Gemisch von halb Bienenwachs und halb Paraffin hatte den Schmelzpunkt bei 51—52° C. Auf eine 18. Platte mit diesem Gemisch von halb Bienenwachs und halb Paraffin ließ ich Eiter aus demselben Karbunkel wie auf Platte 17 24 Stunden bei 43° einwirken; man konnte keine Veränderung an dem Fettgemisch sehen. Das reine Bienenwachs scheint das beste Material für die Experimente zu sein.

Bergel beschreibt in Heft 33 des Jahrgangs 1919 der Münchner medizinischen Wochenschrift Versuche mit Wachsplatten, die nach der Bendaschen Färbemethode gefärbt waren, und will dabei einen Farbumschlag von grün in dunkelblauschwarz beobachtet haben. Mit einer 19. Platte aus reinem Bienenwachs, das nach Benda gefärbt war, machten wir einen Versuch mit rein lymphocytärem Eiter, indem wir an einigen Stellen frischen, an anderen Stellen gekochten Eiter brachten. Wir erhielten zwar einen dumpfen Farbenumschlag, jedoch an den Stellen mit gekochtem Eiter genau denselben wie mit frischem Eiter, obgleich doch in dem gekochten Eiter die Fermente durch ausgiebiges Kochen sicher zerstört waren. Diese Andeutung eines Farbenumschlages kann also nicht auf durch die Lymphocytenfermente abgespaltenen Fettsäuren beruhen. Zudem war der Farbenumschlag so gering, daß seine positive Verwertung überhaupt zweifelhaft schien. Von mir wurde mit verschiedenen Farbstoffen versucht, das Bienenwachs zu färben und dann unter der Einwirkung von Eiter einen Farbumschlag zu erzielen. Zunächst färbte ich mit alizarinsulfosaurem Natrium, das in alkoholischer Lösung dem flüssigen Wachs zugesetzt wurde. Zur Neutralisation der im Wachs vorhandenen freien Fettsäuren wurde der Farbstoff in alkoholischer Natronlauge zugesetzt. Die Menge Natronlauge wurde so gewählt, daß die Indicatorfarbe eben schwach alkalische Reaktion des Wachses anzeigte. Bei Zusatz von Säure trat ein Umschlag von schwarzbraun in hellbraun ein.

Eine 20. Platte wurde mit diesem gefärbten Wachs der Einwirkung von lymphocytärem Eiter ausgesetzt. Eine undeutliche, geringe Hellerfärbung trat ein, aber Proben mit gekochtem Eiter ergaben dieselbe Veränderung, so daß ein Unterschied gar nicht wahrzunehmen und der Versuch nicht als positiv anzusprechen war. Einen weiteren Versuch machte man mit Neutralrot, welches das Bienenwachs orangegelb färbte und bei Zusatz von Säure einen Umschlag in intensiv rot ergab.

Eine 21. Platte ergab jedoch unter der 24stündigen Einwirkung von lymphocytärem Eiter bei 43° C aus einem Kaninchenabsceß keinen Farbumschlag. Eine 22. Platte färbte ich mit Methylrot; das Wachs wurde

orangegelb und eine Probe auf Säurezusatz intensiv rot. Dieser Platte setzte man leukocytären Eiter zu und ließ ihn bei 35° 24 Stunden einwirken; neben dem frischen Eiter brachte man an 2 Stellen einen Tropfen gekochten Eiter an; das Ergebnis war: Es trat kein Farbenumschlag ein, nur leichte Andauung des Wachses war zu sehen.

Wieder ging ich darauf aus, ein Fettgemisch mit niederem Schmelzpunkt zu bekommen, das die Einwirkung der Fermente der weißen Blutkörperchen deutlicher zeigen würde. Ich stellte ein Gemisch von halb Bienenwachs und halb Schweinefett her; der Schmelzpunkt lag bei 51°. Dies läßt vermuten, daß die Fermente leichter in das Gemisch eindringen können. Zunächst brachte ich auf eine 23. Platte aus diesem Fettgemisch rein lymphocytären Eiter und ließ die Platte bei 38° zunächst 24 Stunden, dann nochmals 12 Stunden im Brutschrank stehen. An 3 Stellen hatte ich frischen, an 3 Stellen gekochten Eiter. An den Stellen mit frischem Eiter war eine Andauung deutlich erkennbar, eine tiefere Dellenbildung jedoch fehlte auch hier. An den Stellen mit gekochtem Eiter war keine Veränderung.

Auf eine 24. Platte wirkte Eiter aus einem Empyem von einer Patientin mit progredienter Lungenphthise. Die Platte war mit alizarinsulfosaurem Natrium gefärbt und stand 36 Stunden bei 38° im Brutschrank. Ein Farbenumschlag trat nicht ein, jedoch eine Andauung an den Stellen mit frischem Eiter, hingegen an den Stellen mit gekochtem Eiter war keine Einwirkung bemerkbar.

Eine 25. Platte, mit Methylorange gefärbt, unterlag der Einwirkung desselben Eiters wie Platte 24 und zeigte ebenfalls deutliche Stellen mit Andauung des Wachses, jedoch ebenfalls keinen Farbumschlag. Eine 26. Platte versah ich mit einem Gemisch von $^2/_3$ Schweinefett und $^1/_3$ Bienenwachs und färbte es mit Methylrot; nach 24 Stunden Einwirkung von leukocytärem Eiter bei 40° war an 6 Stellen ein schöner Farbenumschlag von orangegelb in intensiv dunkelrot zu sehen, außerdem eine deutliche Andauung dieser Stellen. Hingegen an den Stellen, die zur Kontrolle mit gekochtem Eiter versehen waren, trat nicht die geringste Veränderung des Wachses oder seiner Farbe auf.

Hiermit dürfte erwiesen sein, und zwar sowohl mit der Andauung des Wachses als besonders mit dem deutlichen Farbumschlag, daß eben die Leukocyten dieselbe Einwirkung auf die zu den Experimenten benutzten Fette ausüben, also z. B. auf Bienenwachs. Und somit muß auch angenommen werden, daß sowohl die Lymphocyten als auch die Leukocyten fettspaltende Fermente besitzen. Mit dem Gemisch von Schweinefett und Bienenwachs machte ich weitere Versuche, indem ich mit dem Mengenverhältnis wechselte. Eine 27. Platte, bestehend aus halb Fett und halb Bienenwachs, ebenfalls mit Methylrot orangegelb gefärbt, stand mit lymphocytärem Eiter bei 39° 24 Stunden in einer

feuchten Kammer im Brutschrank; hier konnte kein Farbumschlag, sondern nur eine leichte Andauung an 4 Stellen festgestellt werden; Kontrollstellen zeigten keine Veränderung des Wachses, sondern waren ganz verschwunden.

Eine 28. Platte mit genau demselben Versuch ergab an 4 Stellen eine leichte Andauung, an 1 Stelle eine deutliche Delle, dagegen keinen Farbumschlag. Platte 29, nur aus Wachs bestehend, färbte ich nach der Bendaschen Methode und beschickte sie mit leukocytärem Eiter; nach 24stündigem Stehen im Brutschrank war ebenfalls bei 39° nur an 6 Stellen eine Andauung des Wachses, jedoch nicht die geringste Spur eines Farbumschlages erkennbar. Der einzige deutliche Farbumschlag war mit dem Fettgemisch $^2/_3$ Schweinefett und $^1/_3$ Bienenwachs, mit Methylrot gefärbt, bei 40° durch leukocytären Eiter erzielt worden. Man entschloß sich daher, mit diesem Fettgemisch und diesem Farbstoff noch weitere Versuche anzustellen.

Auf Platte 30 wirkte rein leukocytärer Eiter von einem incidierten Karbunkel bei 40° 24 Stunden ein; die Platte bestand wieder aus $^2/_3$ Fett und $^1/_3$ Wachs und war mit Methylrot gefärbt. Sämtliche 4 Stellen ergaben einen intensiven Farbenumschlag und deutliche Andauung.

Platte 31 war ebenfalls 24 Stunden im Brutschrank bei 40°; diese war aus dem gleichen Gemisch zusammengesetzt und stand unter der Einwirkung von leukocytärem Eiter aus einem Absceß; auch hier zeigten die 4 mit Eiter besetzten Stellen einen deutlichen Farbumschlag, ebenso eine deutliche Dellenbildung. Auf eine Platte 32, aus halb Wachs und halb Fett, mit Methylrot gefärbt, wirkte leukocytärer Eiter bei 39° 24 Stunden. 3 Stellen zeigten deutlichen Farbenumschlag.

Platte 33, aus $^1/_3$ Fett und $^2/_3$ Wachs, der Einwirkung desselben Eiters unter den gleichen Bedingungen ausgesetzt, zeigte ebenfalls an 4 Stellen mit frischem Eiter deutlichen Farbumschlag, doch nicht so intensiv wie bei 32. Eine 34. Platte, aus $^2/_3$ Fett und $^1/_3$ Wachs, mit Methylrot gefärbt, wurde unter denselben Bedingungen lymphocytärem Eiter ausgesetzt und ergab dasselbe Resultat wie die Platte mit leukocytärem Eiter, nämlich 4 Stellen mit deutlichem Farbenumschlag und Dellenbildung.

Die 35. Platte aus $^1/_2$ Wachs und $^1/_2$ Fett, mit Methylrot gefärbt, ergab unter der Einwirkung des gleichen Eiters den Farbumschlag von orangegelb in carminrot.

Zusammenfassung.

Die Methode Bergels, mit Wachsplatten das Vorhandensein von fettspaltenden Fermenten in den weißen Blutkörperchen nachzuweisen, ist durchaus brauchbar, besonders in der hier dargelegten Modifikation, die darin besteht, den Eiter auf einem mit Methylrot gefärbten Fett-

gemisch von halb Schweinefett und halb Wachs oder noch besser $^3/_3$ Schweinefett und $^1/_3$ Wachs einwirken zu lassen. Nur scheint uns die von Bergel angegebene Temperatur von 52° und 43° C im Brutschrank nicht für alle Fälle die gegebene zu sein, da wir bei niedereren Temperaturen, z. B. 40 und 30° C bei leukocytärem Eiter bessere Resultate erzielten. Das dürfte wohl dahin zu erklären sein, daß die Leukocytenfermente eine geringere Resistenz gegen höhere Temperatur zeigen als die Lymphocytenfermente. Mit dem Ergebnis unserer Untersuchungen sollte die fettspaltende Wirkung der Lymphocytenfermente keineswegs in Abrede gestellt werden, im Gegenteil: die lipolytischen Fähigkeiten der Lymphocyten konnten wir bei unseren Versuchen nur bestätigen, wobei allerdings unentschieden bleibt, ob diese Eigenschaft gerade bei der Tuberkulose im Sinne Bergels als Abwehrmaßregel zu betrachten ist. Jedenfalls geht aus unseren Untersuchungen so viel hervor, daß die Behauptung Bergels, den Leukocyten fehle im Gegensatz zu den Lymphocyten ein lipolytisches Vermögen, nicht aufrechterhalten werden kann, da wir ja, wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, vielfach gerade bei reinem Leukocyteneiter eine besonders intensive Fettspaltung beobachtet haben; es scheint uns, daß es sich bezüglich des Fettspaltungsvermögens um eine allgemeine Zelleigenschaft handelt. Eine Differenzierung beider Blutzellen ist deshalb auf Grund dieser Methode nicht durchführbar. Wir stehen daher auf dem Standpunkt Caros, daß man in der Beurteilung dieser Frage auch im speziellen Hinblick auf das Tuberkulosenproblem im Sinne Bergels sehr vorsichtig sein muß.

Literatur.

Bergel, Fettspaltendes Ferment in den Lymphocyten. Münch. med. Wochenschr. 1909, H. 2. — Bergel, Beziehung der Lymphocyten zur Fettspaltung. Münch. med. Wochenschr. 1910, H. 32. — Bergel, Zur Lymphocytenlipase. Münch. med. Wochenschr. 1919, H. 33. — Bergel, Die Lymphocytenlipase; Bemerkungen zum Aufsatz von Caro, Posen. Zeitschr. f. klin. Med. **90**, H. 1 u. 2. 1920. — Caro, Fettspaltende Fermente im menschlichen Blutserum, ihre Abhängigkeit von krankhaften, namentlich kachektischen Zuständen, ihre Unabhängigkeit von der histologischen Zusammensetzung des Blutes. Zeitschr. f. klin. Med. **78**, H. 3 u. 4. 1920. — Caro, Herkunft und Bedeutung der fettspaltenden Fermente des menschlichen Blutes. Zeitschr. f. klin. Med. **89**, H. 1 u. 2. 1920.

Beitrag zur agglutinogenen Wirkung der Bakterienfette.

Von

Hermann Schachenmeier.

(Aus dem Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik zu Freiburg i. Br.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 29. August 1921.)

In den letzten Jahren haben die Fette, insbesondere die Lipoide in der Immunitätslehre immer mehr an Bedeutung gewonnen, und die Zahl derer, die die alleinige antigene Natur der Eiweißkörper bestreiten und auch den Fetten antigenen Charakter beimessen, hat ständig zugenommen.

Stuber hat gezeigt, daß speziell bei dem Vorgang der Agglutination den Fetten agglutinogene Wirkung zukommt. Borcic ist bei einer Nachprüfung der Stuberschen Versuche zu anderen Ergebnissen gelangt, auf Grund deren er die agglutinogene Wirkung der Bakterienfette ablehnt und den Eiweißkörpern die Hauptrolle zuweist.

Einer Anregung Stubers folgend, haben wir noch einmal eine Nachprüfung der Versuche vorgenommen.

Methodik.

Für unsere Versuche verwendeten wir Typhusbacillen, Staphylokokken und Colibacillen, und zwar wurden zur Herstellung der Fettemulsionen jeweils 30 Agarschrägröhrchen genommen. Abgeschwemmt wurden die Kulturen mit absolutem Alkohol, wobei sorgfältig darauf geachtet wurde, daß der Nährboden nicht verletzt wurde. Nach etwa 24stündigem Stehen in Alkohol wurden die Kulturen mit gehärteten Filtern filtriert, getrocknet und im Mörser mit Glasstaub fein zerrieben, so daß eine weitgehende Zerstörung der Bakterienleiber erreicht wurde. Der abfiltrierte Alkohol wurde zur Extraktion weiterhin verwandt. Auf diese Weise wurde es möglich, die Fette möglichst quantitativ zu extrahieren. Die so vorbehandelte Bakterienmasse wurde nun im Soxhletapparat 3 mal 24 Stunden mit absolutem Alkohol extrahiert. Darauf folgte eine ebenso lang dauernde Extraktion mit Petroläther. Die Alkoholextrakte wurden dann eingedampft und mit heißem destilliertem Wasser extrahiert. Die Extraktion wurde 5 mal wiederholt.

Der vom Wasser befreite Rückstand, welcher eine gelblich-bräunliche, ölige Flüssigkeit mit vereinzelten Krystallbildungen und buttersäureähnlichem Geruch darstellte, wurde erneut in Alkohol aufgenommen. Ebenso wurden die Petrolätherextrakte 5 mal mit destilliertem Wasser ausgeschüttelt. Die so gereinigten Alkohol- und Petrolätherextrakte wurden bis auf wenige Kubikzentimeter eingedampft, vereinigt und durch Eintragen in angewärmtes, destilliertes Wasser Emulsionen hergestellt. Der Alkohol und Petroläther wurde auf dem Wasserbade vollständig verjagt. Um länger haltbare Emulsionen zu bekommen, ist es zweckmäßig, etwa eine Stunde auf der Schüttelmaschine zu schütteln. Auf diese Weise erhielten wir jeweils 30 ccm einer homogenen Emulsion, die auf dem Wasserbade sterilisiert wurde. Wir haben mit diesen Fettemulsionen die Biuret-, Xanthoprotein-, Millon- und Tryptophanreaktion angestellt; alle waren negativ.

Die entfetteten Rückstände wurden ebenfalls in Wasser aufgenommen und auf der Schüttelmaschine eine halbe Stunde geschüttelt und so eine Emulsion des Eiweißrestes hergestellt.

Unsere so gewonnenen Emulsionen wurden in Mengen von 1—10 ccm sowohl Tieren (Kaninchen) als auch Menschen subcutan eingespritzt. Bei den Versuchen an Menschen haben wir Individuen gewählt, deren körperliche Beschaffenheit eine einwandfreie Verwertung der Versuchsergebnisse gestattete.

Wir benutzten zur Agglutination Staphylokokken, Colibacillen, Typhusbacillen und Paratyphusbacillen A und B.

Die Versuchsergebnisse haben wir graphisch dargestellt. Es folgen nun die Versuche und Kurven.

Versuche mit Staphylokokkenfett.

Versuch 1: Patient H.

Kontrollblutentnahme am 27. IX. 1920; keine Agglutination. Darauf wurden 5 ccm Staphylokokkenfett subcutan injiziert. Es wurde nun 2 Stunden, 6 Stunden und 24 Stunden post injectionem Blut entnommen.

Am 1. X. 1920 wurde wieder Blut entnommen und dann 10 ccm Staphylokokkenfett subcutan injiziert. Dann nach 4 Stunden, 24 Stunden und nach 3 mal 24 Stunden Blut entnommen.

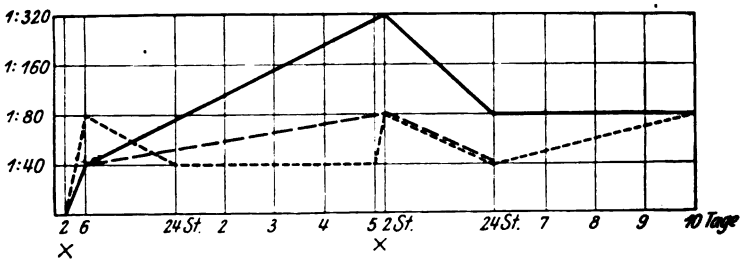


Abb. 1. Kurve 1.
Coli – · – Typh. — — — Staph. .....

Versuch 2: Patient B.

Kontrollblutentnahme am 13. VIII. 1920. Agglutination negativ. Hierauf wurden 5 ccm Staphylokokkenfett subcutan eingespritzt. Blutentnahmen nach 12 und 24 Stunden.

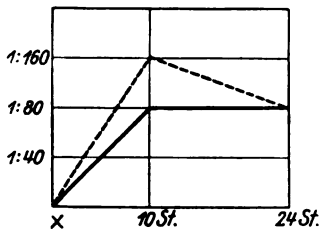


Abb. 2. Kurve 2.
Coli ——— Staph. — — —

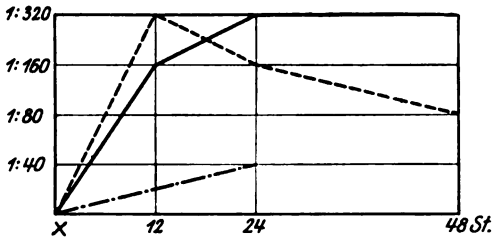


Abb. 8. Kurve 8.
Coli Staph. — — — Para A u. B —·—·—

Versuch 3: Kaninchen Nr. 36a. Gewicht 3000 g.

Kontrollblutentnahme am 12. VIII. 1920. Agglutination negativ. Danach folgte die subcutane Injektion von 2 ccm Staphylokokkenfettemulsion. Erste Blutentnahme nach 12 Stunden. Zweite Blutentnahme nach 24 Stunden; daran anschließend 5 ccm Staphylokokkenfettemulsion subcutan. Dritte Blutentnahme nach weiteren 24 Stunden.

Versuch 4: Kaninchen Nr. 40. Gewicht 2290 g.

Kontrollblutentnahme am 22. IX. 1920 morgens 10^h. Agglutination negativ. Gleich darauf 5 ccm Staphylokokkenfettemulsion subcutan. Erste Blutentnahme nach 2 Stunden, zweite Blutentnahme nach 6 Stunden.

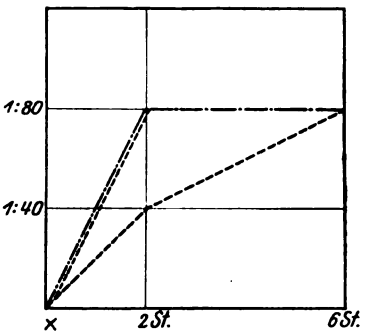


Abb. 4. Kurve 4.
Staph. —— Typh. ····· Para B —·—

Fortsetzung des Versuches 4 am 22. IX. 1920.

Kontrollblutentnahme, dann 10 ccm Staphylokokkenemulsion subcutan.

Agglutination.

	Staph.	Coli	Typh.	Para A	Para B
Kontrolle	—	—	—	—	—
Blutentnahme nach 2 Std.	—	1 : 40 +	—	—	—
„ „ 6 „	—	1 : 40 +	—	—	—
„ „ 24 „	1 : 40 +	—	—	—	—
„ am 2. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 4. X. 20	—	—	1 : 40 +	—	—
Am 4. X. 20 erneut 10 ccm Staph.-Fettemulsion.					
Blutentnahme am 5. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 6. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 7. X. 20	1 : 40 +	1 : 80 +	—	—	—
„ „ 8. X. 20	—	1 : 40 +	—	—	—

Versuch 5: Kaninchen Nr. 24. Gewicht 1540 g.

Kontrollblutentnahme am 28. IX. 1920 morgens 10^h. Agglutination negativ. Darauf mit Staphylokokken — 1 Öse bei 56° — 2 Stunden abgetötet, subcutan geimpft.

Agglutination.

	Staph.	Coli	Typh.	Para A	Para B
Blutentnahme am 28. IX. 20	1 : 40 +	—	—	—	—
„ „ 1. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 5. X. 20	—	1 : 40 +	1 : 80 +	—	—
„ „ 6. X. 20	1 : 40 +	1 : 40 +	—	—	—
„ „ 7. X. 20	1 : 40 +	—	—	—	—
„ „ 8. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 9. X. 20	—	—	—	—	—

Versuch 6. Kaninchen Nr. 33. Gewicht 2320 g.

Kontrollblutentnahme am 14. X. 1920. Agglutination negativ. Darauf 2,5 ccm Staphylokokkenrückstand subcutan (Rückstand von 4 Emulsionen).

Agglutination.

	Staph.	Coli	Typh.	Para A	Para B
Blutentnahme nach 2 Std.	—	1 : 80 +	—	—	—
„ „ 6 „	1 : 40 +	1 : 80 +	—	—	—
„ am 15. X. 20	1 : 40 +	—	—	—	—
„ „ 16. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 18. X. 20	—	1 : 40 +	—	—	—
„ „ 19. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 21. X. 20	—	1 : 80 +	—	—	—
„ „ 23. X. 20	—	1 : 160 +	—	—	—
„ „ 26. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 29. X. 20	—	—	—	—	—
„ „ 2. XI. 20	—	—	—	—	—

Versuche mit Colifetten.

Versuch 7: Kaninchen Nr. 36 B.

Kontrollblutentnahme am 6. X. 1920. Agglutination negativ. Darauf 10 ccm Colifettemulsion subcutan. Es wurde Blut entnommen nach 2 Stunden, 6, 24 und 48 Stunden. Am 8. X. 1920 folgte eine zweite subcutane Injektion von 10 ccm Colifettemulsion. Folgende Blutentnahmen am 9. X., 11. X., 12. X., 13. X. 1920.

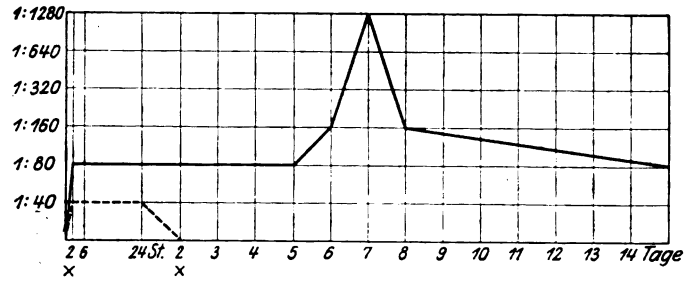


Abb. 5. Kurve 7.
Coli ····· Staph. — — —

Versuch 8: Kaninchen Nr. 61.

Kontrollblutentnahme am 15. X. 1920. Agglutination negativ. Darauf subcutane Injektion von 3 ccm Colirückstand fettarm (von 3 Fettemulsionen). Blutentnahmen nach 2, 6 und 24 Stunden, sodann am 18., 19., 20., 23., 26., 29. X., 2., 5., 9., 12. und 18. XI.

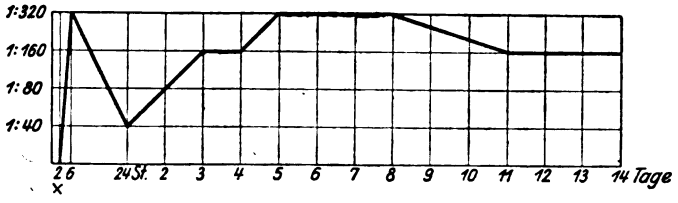


Abb. 6. Kurve 8. Coli ———

Versuche mit Typhusfetten.

Versuch 9: Kaninchen Nr. 34b.

Kontrollblutentnahme am 19. XI. 1920. Darauf subcutane Injektion von 5 ccm reiner Typhusfettemulsion. Am 23. XI. 1920 10 ccm subcutan.

Agglutination.

	Staph.	Coli	Typh.	Para A	Para B
Kontrolle	—	—	—	—	—
Blutentnahme am 10. XI. 20	—	—	—	—	—
„ „ 22. XI. 20	—	—	—	—	—
„ „ 24. XI. 20	—	—	1 : 640 +	—	—
„ „ 27. XI. 20	—	—	1 : 160 +	—	—
„ „ 3. XII. 20	—	—	—	—	—
„ „ 7. XII. 20	—	—	—	—	—

Siehe Kurve Versuch 11.

Versuch 10: Kaninchen Nr. 28.

Es wurden am 8. XII. 1920 20 ccm Typhusbacillenrückstand subcutan eingespritzt. Blutentnahmen am 12., 14., 16. und 20. XII. Das Kontrollblut sowie das nach erfolgter Injektion entnommene Blut zeigten keine Agglutination.

Versuch 11: Kaninchen Nr. 1.

Kontrollblutentnahme am 19. X. 1920. Sodann Impfung mit einer Öse Typhusbacillen (bei 56° 2 Stunden abgeschwächt). Blutentnahmen am 21., 23., 26., 29. X., 2., 5., 9., 18., 23., 27. XI.

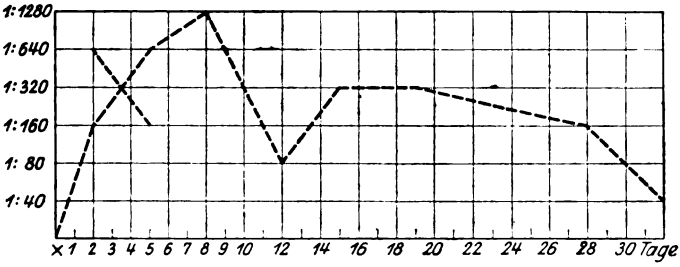


Abb. 7. Kurve 9—11. Typh. — — —

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Es ist uns bei unseren Versuchen gelungen, durch subcutan einverleibte, reine Bakterienfette in jedem Falle den Vorgang der Agglutination auszulösen. Besondere Reaktionen des Körpers konnten wir keine beobachten, ausgenommen einen Fall (Versuch 1), bei dem es vorübergehend zu einer geringen Temperaturerhöhung kam, verbunden mit leichter Druckempfindlichkeit und Rötung der Injektionsstelle.

Qualitativ war die Agglutination außerordentlich verschieden. Wir konnten die Agglutination in einigen Versuchen nur in niedrigen Verdünnungen beobachten, in anderen wieder agglutinierte das Serum noch in Verdünnungen von 1 : 1280. Wie wir aus den Kurven der Versuche Nr. 1 und 3 entnehmen können, wurde hier durch Staphylokokkenfett Agglutination in Verdünnungen bis 1 : 320 hervorgerufen. Vergleichen wir damit die Ergebnisse der Versuche Nr. 5 und 6, so sehen wir, daß durch aktive Immunisierung mit Staphylokokkenvaccine (1 Öse) und durch Einspritzung von fettarmen Rückständen der Staphylokokken weit geringere Agglutininbildung — 1 : 80 und 1 : 160 — erreicht wurde.

Durch Einspritzung von Colibacillenfett konnten wir in Versuch 7 eine so starke Agglutininbildung hervorrufen, daß sie noch in Verdünnung 1 : 1280 nachweisbar war. Der fettarme Rückstand der Colibacillen ergab in Versuch 8 Agglutination nur bis 1 : 320. In Versuch 9 wurde durch Typhusbacillenfett Agglutination bis 1 : 640 erzielt, während der fettarme Rückstand, wie Versuch 10 ergibt, keine Agglutininbildung auslösen konnte.

Wie ein Blick auf unsere Kurven und Tabellen zeigt, haben wir in fast allen Versuchen Mitagglutinine beobachten können. In Versuch 3, bei dem wir Staphylokokkenfett verwendeten, sahen wir eine stärkere Agglutination der Colibacillen, in Versuch 4 eine ebensolche der Paratyphus B-Bacillen, so daß wir berechtigt sind, von einer relativen Spezifität der von uns erzeugten Agglutinine zu sprechen.

Daß die Agglutinine keine gewöhnlichen Eiweißkörper sein können, darauf haben schon Nicolle und Winterberg hingewiesen. Der eine fand als Agglutinogen eine in Alkohol lösliche, der andere eine in Alkohol unlösliche Substanz. Von Pick wurde die von Winterberg dargestellte Substanz als durch Alkohol fällbares Bakterienkoagulin A beschrieben. Ebenso wurde von Pick das Koagulin K, das durch Alkohol nicht fällbar ist, dargestellt. Koagulin K gibt keine Biuretreaktion, meist auch keine Millonsche Reaktion. Es kann sich also um keinen gewöhnlichen Eiweißkörper handeln, weder Albumose noch Pepton noch Nucleoproteid. Die Koaguline A und K sind sehr resistent. Eine Minute Kochen, Pepsin-Salzsäure, Trypsin-Soda-Verdauung sowie Säuren und

Alkalienwirkung, Fäulnis waren nicht imstande, die agglutinogene Eigenschaft zu zerstören.

Joos beschrieb 2 Agglutinogene a und b, welche sich durch ihre Thermoresistenz unterscheiden. Nach Paltauf erklärt sich die verschiedene Thermostabilität durch den verschiedenen Eiweißgehalt des Gesamtmoleküls, dessen Bestandteil die agglutinogenen Gruppen sind.

Defalle hat nachgewiesen, daß die immunoreaktiven Körper hauptsächlich in den Zellmembranen stecken, welche wir als Sitz der Hauptmasse der Lipoide ansehen müssen. Er fand nämlich, daß der Autolyse unterworfene Hefezellen, von denen nur noch die leeren Hüllen übrig waren, eine ebenso starke Immunitätsreaktion haben als intakte Hefezellen.

Von neueren Autoren haben zuerst Bang und Forssman durch ein aus roten Blutzellen dargestelltes Lipoid, das sicher stickstoffrei war, eine Immunitätsreaktion erzeugen können. Deycke hat dann in Nastin einen immunoreaktiven Fettkörper gefunden. Von Much und Adam wurden dann weiter die Beziehungen zwischen Eiweiß und Lipoidantikörper aufgeklärt. Es gelang Much, mit vollständig eiweißfreien Lipoidemulsionen Antikörper zu erzielen. Weiterhin hat Stuber auf die agglutinogene Eigenschaft der Bakterienfette hingewiesen.

In unseren vorstehenden Versuchen konnten wir die Ergebnisse Stubers bestätigen.

Zusammenfassung.

1. Durch die Versuche wurde gezeigt, daß die Fettstoffe der Bakterien befähigt sind, Antikörper zu erzeugen. Wir können sie also als Agglutinogene auffassen.

2. Die Spezifität der Agglutinine ist nur eine relative.

Über die Wechselbeziehungen zwischen Blutplasma und Gewebeflüssigkeiten, insbesondere Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit.

Von

J. de Haan und **S. van Creveld.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

Mit 1 Abbildung im Text.

(Eingegangen am 22. August 1921.)

II. Durchlässigkeit für Fluorescein und Jodsalze.

In einer vorhergehenden Arbeit[1]) haben wir mitgeteilt, daß im Hinblick auf ihren Zuckergehalt das Kammerwasser und die Cerebrospinalflüssigkeit sich wie ein Dialysat des Blutplasmas verhalten; der freie Teil des Plasmazuckers diffundiert fortwährend ziemlich schnell in beide Flüssigkeiten hinein; für den gebundenen Teil des Plasmazuckers trifft dies jedoch nicht zu; die Dichte der betreffenden Membrane macht letzterem ebenso wie allen anderen Kolloiden den Durchtritt nahezu unmöglich.

Die Diffusionsgeschwindigkeit des frei im Plasma vorhandenen Zuckers in beide Flüssigkeiten hinein war von etwa derselben Größe; wenn dennoch der Zuckergehalt im Gehirnwasser erheblich niedriger gefunden wurde als im Kammerwasser, konnte dies nur durch Annahme eines größeren Zuckerverbrauches im Gehirngewebe erklärt werden.

Wir haben uns nicht auf die Glucose beschränkt, sondern in späteren Versuchen untersucht, ob auch für andere Krystalloide dieselbe (ziemlich große) Durchlässigkeit zutrifft und wiederum für beide Flüssigkeiten dieselbe ist.

Wir möchten hier als erstes Ergebnis dieser Untersuchungen über Versuche berichten mit zwei typischen, leicht nachweisbaren und deshalb schon vielfach verwendeten Stoffen, und zwar mit dem Fluorescein für das Auge und mit Jod(kali) für Kammerwasser und Gehirnwasser. Wo es hier Stoffe betrifft, welche normal dem Blute fremd sind, war es für das Aufdecken der Diffusionsverhältnisse genügend, wenn

[1]) Diese Zeitschr. **123**, 190. 1921.

wir während einer gehörig langen Zeit im Blute eine leicht nachweisbare Konzentration dieser Stoffe unterhielten, und am Ende des Versuches die Untersuchung von Blutplasma, Gehirnwasser und Kammerwasser, die nahezu zur selben Zeit entnommen wurden, vornahmen.

Durchtritt des Fluoresceins in das Kammerwasser.

Seit P. Ehrlich[1]) in seiner berühmten Schrift das merkwürdige Eintreten des Fluoresceins in die vordere Augenkammer beschrieben hat, ist dieser Farbstoff ein beliebtes Mittel für nähere Studien über die Flüssigkeitsbewegungen im vorderen Augenteil geworden. Es zeigte sich bald, daß die ursprüngliche Meinung Ehrlichs, daß sich hier im grünen Fluoresceinstreifen die normale Bewegungsrichtung der Flüssigkeit im vorderen Augenteil abspiegelte, nicht zutrifft, daß es sich hier vielmehr nur um die Diffusion eines gelösten Stoffes, nicht um eine Bewegungsrichtung des Lösungsmittels handelt.

Unsere Aufmerksamkeit wurde auf diesen Stoff hingelenkt durch eine Erwähnung Wesselys[2]); in seiner ausführlichen Bearbeitung der Frage vom Entstehen des Kammerwassers teilt dieser Autor, der im übrigen bekanntlich eine langsame Strömung des Kammerwassers infolge mechanischer Filtration seitens des Corpus ciliare annimmt, mit, daß diesem mechanischen Erklärungsmodus seines Ersehens nur als einziger Einwand das merkwürdige Verhalten beim Durchtritt des Fluoresceins gegenübersteht. Während ja die bekanntesten krystalloiden Stoffe im Plasma und Kammerwasser etwa in derselben Konzentration vorhanden sind, trifft dies für das dennoch überaus diffusible Fluorescein nicht zu. Wessely berichtet über Versuche am Kaninchen, woraus erhellt, daß der Durchtritt des Farbstoffs aus dem Blute in das Kammerwasser nur bis zu einer Konzentration geht, welche der zur selben Zeit im Blute (und auch der Lymphe) vorhandenen Konzentration weit nachsteht (Kammerwasser $^1/_{1\,000\,000}$; Blutserum $^1/_{20\,000}$; Lymphe $^1/_{20\,000}$). Diesen Konzentrationsunterschied bei einem so diffusibeln Stoff konnte Wessely nicht anders als durch ein „vitales" Zurückhalten des Farbstoffes bei stärkeren Konzentrationen durch das Corpus ciliare erklären.

Bekanntlich ist demgegenüber die Konzentration an Fluorescein im sekundären Kammerwasser dieselbe als im Blutplasma. Unsere ersten Ergebnisse mit dem Zurückhalten des sog. „gebundenen Zuckers" aus dem Kammerwasser veranlaßten uns, zugleich auch die Frage näher zu untersuchen, ob es sich hier mit dem eigentümlichen Verhalten des Fluoresceins zum Kammerwasser nicht um etwas ähnliches handeln könnte; wäre es nicht möglich, daß die niedrige Konzentration dieses Farbstoffes im Kammerwasser daher rühre, daß das Fluorescein (in noch viel stärkerem Grade als der Zucker) von den Plasmakolloiden gebunden und festgehalten wird? Obgleich an und für sich gut diffusibel, würde dennoch der Farbstoff in Gegenwart dieser Kolloide durch Bindung an letztere sehr viel an Diffusibilität einbüßen; in diesem Falle wäre also die niedrige Konzentration des Farbstoffes im Kammerwasser dieselbe als die des freien (diffusibeln) Teiles desselben im Blutplasma. Im sekundären Kammerwasser würde wiederum mit den Plasmakolloiden auch der größte gebundene Farbstoffteil vorhanden sein.

[1]) Dtsch. med. Wochenschr. 1882, H. 2—4.

[2]) Ergebn. d. Physiol. 4 (I), 628. 1905.

Schon die ersten Vorversuche zeigten, daß diese Voraussetzung wirklich zutrifft. Bei genauerer Kenntnisnahme der Literatur bemerkten wir jedoch, daß schon U. Friedemann[1]) bei der Besprechung dieser Frage in einer kurzen Notiz über vorläufige Versuche berichtet, welche darauf hinweisen, daß im Blutplasma eine lockere Bindung des Fluoresceins vorhanden ist: der Farbstoff diffundierte nicht durch tote Membranen, falls derselbe in Blutserum gelöst war. Wir haben uns nicht mit dem vorläufigen Feststellen der Bindung des Farbstoffes begnügt, sondern den Vergleich zwischen dem Verhalten in vivo und in vitro etwas weiter durchgeführt[2]).

Es hatte sich herausgestellt, daß eine Lösung von Fluoresceinkalium, $^1/_{20000}$ in NaCl 0,9% durch irgendein Ultrafilter (wir verwendeten sowohl größere Ultrafilterapparate nach Bechhold als kleinere nach De Waard[3]) vollständig durchgeht. Wird es jedoch zu derselben Konzentration in Blutserum eines Kaninchens oder eines Rindes gelöst, so bleibt weitaus der größte Teil des Farbstoffes auf dem Filter zurück, während im eiweißfreien Filtrate die Konzentration eine viel geringere ist, wechselnd von etwa $^1/_{100000}$ bis $^1/_{300000}$. Wir haben die Versuche noch derart abgeändert, daß wir nicht ultrafiltrierten, sondern, ebenso wie sich allem Anscheine nach die Verhältnisse beim Kammerwasser vorfinden, unter Druck dialysierten. Die untere Hälfte des De Waardschen Apparates (unter dem Filter) wurde zu diesem Zwecke ganz mit NaCl 0,9 gefüllt; diese Flüssigkeit repräsentierte das Kammerwasser; in dieselbe hinein konnte nun unter dem Drucke der Zentrifugalkraft (mit dem Blutdrucke vergleichbar) aus dem Serum (resp. Kochsalzlösung) oberhalb des Filters der Farbstoff hineindiffundieren; auch bei dieser Versuchsanordnung stellte es sich heraus, daß aus dem Serum die Diffusion des Farbstoffes viel langsamer und die Endkonzentration in der unteren Flüssigkeit eine viel geringere war als aus der Kochsalzlösung.

Die niedrige Konzentration im Filtrate konnte nicht auf eine Adsorption an das Filter beruhen, denn wir trugen Sorge dafür, die ersten

[1]) Handbuch der Biochemie von Oppenheimer III, **2**, S. 282. 1909

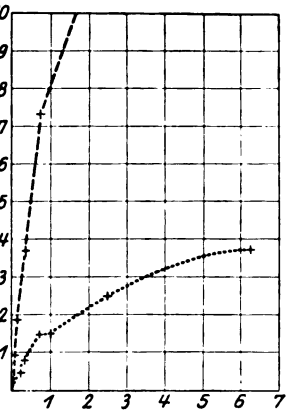
[2]) Erst nach Abschluß unserer Versuche konnten wir von einer eben erschienenen Arbeit Seidels (Graefes Arch. f. Ophthalmol. **104**, 162. 1921) Kenntnis nehmen, welcher im Anschluß an Untersuchungen über die Ursachen des Unterschiedes im Eiweißgehalt beim sekundären Kammerwasser bei Menschen und Kaninchen ebenfalls (offenbar ohne Kenntnis der Versuche Friedemanns) über Versuche berichtet, wobei mit Ultrafiltern verschiedener Porengröße aus Serum-Fluoresceinlösungen das Ultrafiltrat den Farbstoff in um so geringerer Konzentration enthielt, je nachdem die Dichte des Ultrafilters eine größere war. Verf. schließt aus seinen Versuchen, daß der geringe Eiweißgehalt des sekundären Kammerwassers des Menschen nur auf eine größere Dichte der trennenden Membrane beruht.

[3]) Siehe D. J. de Waard: Arch. Néerland de Physiol. II, 4. S. 530, 1918.

filtrierten Portionen wieder dem Serum zuzufügen; auch nachdem in dieser Weise das Filter sich eventuell mit Farbstoff gesättigt hatte, war die Konzentration des Farbstoffes in den nachher durchfiltrierten Portionen etwa dieselbe als beim Anfange.

Die Konzentrationen ließen sich in kleineren oder größeren Röhrchen von gleichem Durchmesser (die Größe abhängig von der zur Verfügung stehenden Flüssigkeitsmenge) colorimetrisch in leichter Weise abschätzen.

Durch weitere Untersuchungen haben wir den Verlauf der Bindung näher studiert. Indem wir demselben Serum steigende Mengen des Farbstoffes zusetzten, untersuchten wir, wie sich dabei die Konzentration des Farbstoffes im Ultrafiltrate verhielt. Es stellte sich heraus, daß das Maximum der Bindung etwa bei einer 0,5—1 proz. Lösung des Farbstoffes im Serum liegt. Bei den verschiedenen Versuchen waren die Verhältnisse für dieselben Konzentrationen nicht immer genau dieselben. Es wäre ein solches auch kaum zu erwarten; erstens wird die Dichte des Ultrafilters nicht immer genau dieselbe sein und zweitens werden für die verschiedenen Sera, auch wenn sie von derselben Tierart stammen, die Bindungsverhältnisse je nach Menge und Zusammensetzung der adsorbierenden Kolloide variieren. In Tabelle I finden sich die Resultate von 3 Versuchsserien mit 3 verschiedenen Sera (vom Rind) unter variierenden Konzentrationsbreiten zusammengestellt. Die betreffenden Zahlen haben wir für die niedrigeren und für die höheren Konzentrationen graphisch dargestellt; und es zeigt sich, daß, wie es auch erwartet werden konnte, die Kurve den Charakter der Adsorptionskurve zeigt.



Graphische Darstellung der Bindungsverhältnisse von Fluorescein an Serum, aus Tab. I zusammengestellt.
– – –: Kurve für die niederen Konzentrationen.
.....: Kurve für die höheren Konzentrationen.
Ordinat.: Gebund. } Teil d. Farb-
Abzisse: Freier } stoffes, in $^1/_{100\,000}$ für die niedrigen und in $^1/_{1000}$ für die höheren Konzentrationen.

Wenn wir nun diese in vitro erhaltenen Zahlen mit den Vorgängen im Auge vergleichen, so finden wir große Übereinstimmung. Zwar ist der Unterschied zwischen den Konzentrationen im Plasma und im Kammerwasser ein etwas größerer: wir fanden beim Kaninchen bei einer Plasmakonzentration von $^1/_{20\,000}$ im Kammerwasser Farbstoffwerte von $^1/_{500\,000}$ bis $^1/_{1\,000\,000}$ etwa eine Stunde, nachdem dem Tiere etwa 150 mg Fluoresceinkalium in 10 proz. Lösung intraperitoneal einverleibt worden war. Es sind dies Zahlen, welche mit den von Wessely mitgeteilten Werten völlig übereinstimmen. Diese Unterschiede zwischen

Tabelle I.

Verhältnis zwischen dem freien und dem gebundenen Teile des Fluoresceinkaliums bei verschiedenen Konzentrationen im Serum.

Konzentration des Fluoresceinkaliums im Rinderserum.	Fluoresceinkonzentration im Ultrafiltrate dieses Serums (freier Teil des Farbstoffes).	Konzentration und Prozentgehalt des gebundenen Teiles des Farbstoffes.
1 auf 100 000	1 auf 1,5 Million	14 auf 1,5 Million = 93,3%
1 „ 50 000	1 „ 800 000	15 auf 800 000 = 93,7%
1 „ 25 000	1 „ 300 000	11 „ 300 000 = 91,6%
1 „ 12 500	1 „ 150 000	11 „ 150 000 = 91,6%
1 „ 4 000	1 „ 28 000	6 „ 28 000 = 85,7%
1 „ 2 000	1 „ 15 000	6,5 „ 15 000 = 86,6%
1 „ 500	1 „ 1 500	2 „ 1 500 = 66,6%
1 „ 100	1 „ 125	0,25 „ 125 = 20%
1 „ 1 000	1 „ 3 500	2,5 „ 3 500 = 71,4%
1 „ 400	1 „ 1 000	1,5 „ 1 000 = 60%
1 „ 200	1 „ 400	1 „ 400 = 50%
1 „ 100	1 „ 160	0,6 „ 160 = 37,5%

den Konzentrationen im Kammerwasser und beim Ultrafiltrate in vitro sind jedoch nur geringfügig und völlig zu vernachlässigen angesichts der größeren Variationen, welche auch beim Ultrafiltrate in vitro für verschiedene Sera (und etwa verschiedene Ultrafilter) sich vorfinden. Eine etwas größere Dichte des „Augenfilters", eine etwas stärkere Farbstoffadsorption im strömenden Blutplasma gegenüber dem Serum und eine auf Grund dieser beiden Faktoren langsam stattfindende Diffusion könnten schon zur Erklärung ausreichen. Daß es sich jedenfalls nicht um ein teleologisches dem Auge Fernhalten der höheren Farbstoffkonzentrationen handelt, zeigt sich, sobald man die im Blutplasma zur Verfügung stehende Farbstoffkonzentration steigert; zugleich mit der dadurch bewirkten größeren Menge des freien Farbstoffteiles von Plasma sieht man auch die Konzentration im Kammerwasser auf mehr als das 10fache des normalen Wertes ansteigen: die Augen färben sich tiefgrün. Dies ist also völlig in Übereinstimmung mit demjenigen, was wir beim Ultrafiltrate in vitro bei langsamer Steigerung der Konzentration sahen. Das unten folgende Beispiel kann dies erläutern:

Es wurde einem Kaninchen intraperitoneal 1 g Farbstoff in 10proz. Lösung gegeben. Wie an verschiedenen Zeiten entnommene Blutproben zeigen, gelingt es in dieser Weise, den Farbstoffspiegel des Blutes während mehrerer Stunden auf ein etwa konstantes Niveau zu halten. Nach 2 Stunden wurde das Kammerwasser dem rechten Auge, nach 6 Stunden dem linken Auge entnommen; die Farbstoffwerte finden sich in Tabelle II.

Wenn wir annehmen, daß nach 6 Stunden das Diffusionsgleichgewicht erreicht ist, so sehen wir, daß jedenfalls die Diffusion eine langsame ist. Daraus können wir weiter schließen, daß, wenn wir bei den

früheren Versuchen eine Stunde nach der Fluoresceingabe im Kammerwasser nur einen Farbstoffgehalt von etwa 1 auf eine Million fanden, letzterer Wert wahrscheinlich nicht dem freien Farbstoffteile im Plasma gleichgekommen ist. Es ist also sehr wahrscheinlich, daß in vivo und in vitro für die Verteilung im Blutplasma zwischen freiem und gebundenen Farbstoffteile übereinstimmende Werte bestehen.

Tabelle II.

Verlauf des Farbstoffdurchtrittes ins Auge beim Kaninchen nach einer einmaligen Gabe von 1 g Fluoresceinkalium intraperitoneal.

Zeitverlauf zwischen Darreichung des Farbstoffes und Entnahme der Flüssigkeit.	Konzentration des Farbstoffes im Blutplasma.	Konzentration des Farbstoffes im primären Kammerwasser.
2 Stunden	1 auf 5000	1 auf 200000
6 Stunden	1 „ 5000	1 „ 75000

Eine zweite Bestätigung der Annahme, daß es sich hier nur um Diffusionsverhältnisse handelt, erhält man, wenn man statt des Kaninchens als Versuchstier den Frosch verwendet. Letzterer besitzt bekanntlich in seinem Blutplasma einen geringeren Gehalt an Kolloiden (Refraktion des Plasmas etwa 1,3400). Die Ausscheidung des einverleibten Farbstoffes ist eine viel langsamere: ist ja die Konzentrationsarbeit der Nieren eine viel geringere. So findet man nach einer Gabe von etwa 10 mg Fluoresceinkalium (1 ccm der 1 proz. Lösung) nach einem oder mehreren Tagen im Blute noch Farbstoffmengen von etwa $^1/_{4000}$, während bei einem gleichgroßen Säugetiere (Maus) die Farbstoffausscheidung nach einigen Stunden schon quantitativ wieder beendet ist. Dennoch ist die Verbreitung im Froschkörper genügend schnell und die Diffusion in das Kammerwasser gestaltet sich viel schneller als beim Säugetiere: sehr schnell tritt eine intensive Grünfärbung im Auge auf und bei einer Plasmakonzentration von etwa 1 : 4000 ist im Auge die Farbstoffmenge schon 1 auf etwa 20 000. Daraus kann man schließen, daß beim Frosche ein größerer Teil des Farbstoffes frei vorhanden ist. Die schnellere Diffusion aus dem Plasma und die geringere Adsorption sind nun mit der geringeren Menge des Adsorbens (Kolloids) völlig im Einklang. Auch bei Versuchen in vitro findet man diese Erscheinung in genau derselben Weise. Wir haben 2 Teile Rinderserum mit 3 Teilen Ringerlösung verdünnt; die Refraktion dieser Serumverdünnung war 1,3400 und, wenn $^1/_{4000}$ Fluorescein zugesetzt wurde, war im Ultrafiltrat an Farbstoff etwa $^1/_{15000}$ enthalten, während aus dem unverdünnten Serum bei dieser Farbstoffkonzentration nur etwa $^1/_{30000}$ ultrafiltrierte.

Daß wirklich die Diffusion auch von freien Krystalloiden durch gleichzeitig vorhandene Kolloide gehemmt wird, läßt sich in frappanter Weise

durch die Geschwindigkeit der Verbreitung des einverleibten Fluoresceins von der Injektionsstelle aus demonstrieren. Wenn man z. B. von zwei gleichgroßen weißen Mäusen der einen intraperitoneal 10 mg Fluorescein in einer 1 proz. wässerigen Lösung, der anderen in Serum gelöst einbringt, tritt die Gelbfärbung des ganzen Tieres (Schwanz, Ohren usw.) beim letzteren viel langsamer auf und erreicht viel geringere Grade, verschwindet jedoch ebensoviel langsamer. Dennoch sieht man aus Tabelle I, daß in 1 proz. Lösung in Serum weitaus der größte Teil des Farbstoffes frei vorhanden ist.

Wir können also schließen, daß die Art und Weise, in der dem Körper einverleibtes Fluorescein in das Kammerwasser übergeht, völlig mit den Verhältnissen übereinstimmt, welche man beim Ultrafiltrieren in vitro vorfindet; auch in diesem Beispiele verhält sich das Membransystem, welches Blut und Kammerwasser trennt, wie eine für Kolloide impermeabele Dialysierhülle.

C. Hamburger hält, als er in seinem Buche[1]) den obenerwähnten Befund Friedemanns mitteilt, einer solchen mechanischen Auffassung der Hauptsache nach 2 Argumente entgegen: Erstens sollte aus dem sehr willkürlichen Auftreten des Farbstoffes in verschiedenen Körperflüssigkeiten, z. B. Kammerwasser, Lymphe, Harn, geschlossen werden müssen, daß die Gesetze der Diffusion für die Verbreitung des Farbstoffes im Körper nicht gelten können. Wir möchten darauf hinweisen, daß betreffs des Unterschiedes zwischen Kammerwasser und Lymphe derselbe sich völlig durch den verschiedenen Kolloidgehalt erklären läßt. Und wenn Hamburger darauf hinweist, daß die Niere, welche auch für Kolloide impermeabel ist, dennoch eine Farbstoffkonzentration durchläßt, welche der des Blutplasmas viele Male übertrifft, so möchten wir betonen, daß die Verhältnisse in der Niere zwar kompliziert sind, und deshalb die reinen Diffusionsverhältnisse nicht mehr im endgültigen Produkt, dem Harn, ihren Ausdruck finden; dennoch weist alles darauf hin, daß das Produkt, welches die erste Membran passiert, nach der Cushnyschen Theorie[2]) nahezu einem Ultrafiltrat des Blutplasmas gleichkommt. Gerade durch Untersuchungen über die Ausscheidungsweise von Farbstoffen hat von Möllendorff[3]) der Auffassung, daß auch die höhermolekularen Stoffe an erster Stelle durch den Glomerulus in den Harn übertreten, eine starke Stütze gegeben. Auch für das Fluorescein könnte also die sekundäre Konzentration völlig auf Rechnung der Arbeit der Tubuli gestellt werden. In seinem zweiten Argument führt Hamburger die Verhältnisse bei dem Auge der Eulen vor; diese Vögel weisen in ihrem Kammerwasser einen hohen Kolloidgehalt auf und dennoch ist die Konzentration des dargereichten Fluoresceins eine viel geringere als im Glaskörper mit niedrigerem Kolloidgehalt. Dieses Argument würde gültig sein, wenn es sich hier um die Kolloide des Blutplasmas handelte, wenn also das Kammerwasser der Eule dem Blutplasma identisch wäre; es betrifft jedoch hier der Kolloidgehalt eine fadenziehende mucinartige Substanz, also ganz etwas anderes als im Blutplasma. Vielmehr spricht das Vorhandensein dieser Substanz für die andere Auffassung Hamburgers, daß wir es im Auge nicht mit einer Flüssigkeitsströmung von einer bestimmten Stelle aus zu tun haben.

[1]) Die Ernährung des Auges. Leipzig 1914.

[2]) Siehe A. R. Cushny, The secretion of the urine. London 1917.

[3]) Anatomische Hefte **53**, 87, 1915.

Schon Bechhold[1]) hat gezeigt, daß auch andere Farbstoffe (Methylenblau) im Plasma eine Adsorptionsverbindung mit den Plasmakolloiden aufweisen; es wäre letzteres bei dem starken elektrischen Ladungscharakter der meisten Farbstoffe dem amphoteren Plasmaeiweiß gegenüber auch kaum anders zu erwarten.

In dieser Weise läßt es sich unseres Ersehens nach erklären, daß auch andere, im übrigen diffusibelere Farbstoffe (z. B. Indigocarmin) sich dem Kammerwasser und der Cerebrospinalflüssigkeit gegenüber fast wie Kolloide verhalten. Für die an und für sich kolloiden Farbstoffe wie Trypanblau gilt ein solches um so mehr. Von Trypanblau konnten wir mehrere Tage nach der intraperitonealen Injektion beim Frosch im primären Kammerwasser keine nachweisbaren Mengen auffinden, während das sekundäre Kammerwasser unmittelbar blaugefärbt war. Auch für diese kolloidalen Farbstoffe wird eine Adsorption an Serumkolloide, wenn auch durch Diffusion und Ultrafiltration nicht nachweisbar, gewiß vorhanden sein.

Dann und wann wird auch eine Bindung, eine Adsorption an das Zellenmaterial selbst im Spiele sein. Wenn z. B. bekanntermaßen der lipoidlösliche basische Farbstoff Methylenblau nach Injektion sich meistens nicht in der Cerebrospinalflüssigkeit findet, so wird dafür nicht nur die Adsorption dieses diffusiblen Stoffes an Serumkolloide, sondern auch die Bindung des etwa frei durchgehenden Teiles an das Gehirngewebe hier wie überall im Körper verantwortlich sein; diese überaus große Affinität zu den Zellen ist ja auch der Grund dafür, daß basische Farbstoffe aus der Blutflüssigkeit sofort verschwinden.

Hinsichtlich des Ungefärbtbleibens durch Farbstoffe könnten also Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit von einheitlichem Standpunkte betrachtet werden. Im nächsten Abschnitt werden wir jedoch sehen, daß hier dennoch keine völlig gleichartigen Membrane vorliegen können.

Durchtritt von Jodsalzen in das Kammerwasser und die Cerebrospinalflüssigkeit.

In derselben Weise wie für Fluorescein wird zweifelsohne der größte Teil der Fälle, wo ein Fehlen bestimmter Stoffe im Kammerwasser und in der Cerebrospinalflüssigkeit erwähnt wird, erklärt werden können. Zumal für das Gehirnwasser gibt es deren eine ganze Reihe (Methylenblau und andere Farbstoffe, Immunstoffe, Fermente, Quecksilber usw.). Von anderen Stoffen, wie Urotropin, Chloroform usw., ist bekannt, daß dieselben schnellstens in Gehirnwasser übertreten. Dagegen ist solches z. B. für Aceton[2]) noch zweifelhaft, und auch für Jodsalze

[1]) Siehe u. m. Bechhold, diese Zeitschr. **6**, 379. 1907.

[2]) Siehe u. m. Koopman, Nederlandsch Tijdschr. v. Geneesk. **1**, 1346. 1920.

sind die Angaben nicht übereinstimmend. Wir haben für vergleichende Untersuchungen letzteren Stoff erwählt, zumal, weil der Nachweis in leichter Weise gelingt und es theoretisch wichtig sein muß, ob auch hier der übereinstimmende Charakter beider Flüssigkeiten wiederum sich vorfindet. Wie gesagt, sprechen die Literaturangaben nicht immer in gleichem Sinne. Wo z. B. Catton[1]) während einer Jodtherapie beim Menschen niemals Jod im Gehirnwasser fand, und auf Grund dieser Erscheinung auf eine Undurchlässigkeit des Plexus chorioideus oder eine Bindung des Jods schließt, teilt Osborne[2]) mit, daß auch im normalen menschlichen Gehirnwasser Spuren von Jod sich mittels der Methode Kendalls nachweisen lassen, und daß die Mengen von Jod nach oralem, rectalem oder intravenösem Darreichen von Jod zunehmen.

Dennoch handelt es sich hier immer noch um geringere Mengen: normal etwa 0,018 mg auf 100 ccm Flüssigkeit; nach oralem Darreichen etwa 0,357, rectal etwa 1,808, intravenös etwa 2 mg auf 100 ccm. Nur in Fällen von Neurosyphilis, insbesondere wenn auch Meningitis hinzutrat, waren die vorhandenen Mengen beim intravenösen Verfahren größere. Es sei nebenbei bemerkt, daß es sich um größere therapeutische Dosen handelte, z. B. eine intravenöse Injektion von 100 ccm einer 10proz. NaJ-Lösung. Ältere Angaben schließen meistens auf ein Fehlen des Jods im normalen Gehirnwasser nach Joddarreichung.

Dagegen teilt für das Kammerwasser Guglianetti[3]) mit, daß 20 bis 30 Minuten nach der Jodgabe im Kammerwasser die Jodreaktion schon positiv ist; nach 2—4 Stunden sollte das Maximum der Reaktion erreicht sein. Es scheint also, daß vielleicht vergleichende experimentelle Versuche hier einen Unterschied zwischen den beiden Flüssigkeiten aufdecken könnten. Die erwähnten Arbeiten liefern darüber keine sicheren Ergebnisse, erstens weil niemals Gehirn- und Kammerwasser zugleich untersucht wurden und auch weil nicht zugleich die im Blutplasma vorhandene Menge kontrolliert wurde.

Die von uns verwendete Methode war sehr einfach. Durch intraperitoneale Injektion bei erwachsenen Kaninchen größerer Mengen Jodkaliums in isotonischer (etwa 3proz.) Lösung haben wir dafür Sorge getragen, daß eine genügende Konzentration des Salzes mehrere Stunden im Blutplasma zirkulierte. Mittels 2—3 Injektionen von je etwa 25—40 ccm in Zeiträumen von 2—3 Stunden wurde etwa 2—3 g Jodkali gegeben; Probeentnahmen des Blutes lehrten, daß in dieser Weise die Plasmakonzentration mehrere Stunden auf etwa $^1/_{1000}$—$^1/_{1500}$ bleibt, also während einer für genügende Diffusion ausreichenden Zeit. Am Ende des Versuches wurden wiederum möglichst zur selben Zeit Blut, Gehirn- und Kammerwasser entnommen, genau nach der Technik, wie im ersten Absatz beschrieben wurde. Zur Untersuchung auf Jod verwendeten wir winzige Quantitäten, nämlich 0,2 ccm einer jeden Flüssigkeit, verdünnten dieselben in Röhrchen von gleichem Durchmesser mit Wasser auf 4 ccm, setzten einige Tropfen Salpetersäure mit etwas salpetriger Säure hinzu, schüttelten das freigewordene Jod mit 0,75 ccm Chloro-

[1]) Journ. of the Americ. med. assoc. **67**, 1369. 1916.
[2]) Ibidem **76**, 1384. 1921.
[3]) Arch. di ottalmol. **20**, 253.

form aus und schätzten colorimetrisch den Jodgehalt in Chloroform ab, dabei von dem Vergleich von Lösungen mit bekanntem Jodgehalt ausgehend, wovon 0,2 ccm in derselben Weise behandelt waren. Kammerwasser und Gehirnwasser konnten als eiweißfrei betrachtet werden, das Blutplasma wurde vorher durch Kochen mit dem gleichen Volum verdünnter Essigsäure oder mittels Ultrafiltrieren im Zentrifugiermikroapparat nach de Waard enteiweißt.

In Tabelle III sieht man die Resultate von 2 Versuchen.

Tabelle III.

Vorhergehendes Verfahren	Untersuchte Flüssigkeit	Gehalt an Jod
Kaninchen I.		
Dreimaliges Einspritzen von 40 + 30 + 30 ccm 3% Jodkalilösung innerhalb etwa 3 Stunden. Blutentnahme etwa 1 Stunde nach Anfang des Versuches; am Ende des Versuches (nach etwa 4 Stunden) Entnahme von Blut, Kammerwasser und Gehirnwasser.	Blutplasma nach 1 Stunde	1 auf 1000
	Blutplasma nach 4 Stunden	1 „ 1000
	Kammerwasser nach 4 Stunden	1 „ 1000
	Gehirnwasser nach 4 Stunden	1 „ 7500
Kaninchen II.		
In derselben Weise wie bei Kan. I Darreichen von 100 ccm KJ 3% innerhalb $3^1/_2$ Stunde. Entnahme von Blut nach $1^1/_2$ und 4, von Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit nach 4 Stunden.	Blutplasma nach $1^1/_2$ Stunden	1 „ 1500
	Blutplasma nach 4 Stunden	1 „ 1000
	Kammerwasser nach 4 Stunden	1 „ 1000
	Gehirnwasser nach 4 Stunden.	1 „ 6000

Mittels Refraktion war jedesmal festgestellt, daß der Eiweißgehalt von Kammerwasser und Gehirnwasser minimal war.

Wir sehen also eine sehr schnelle Diffusion in das Kammerwasser, wo schon ein Gleichgewicht mit dem Blutplasma sich eingestellt hat zu einer Zeit, wo im Gehirnwasser nur noch viel geringere Jodmengen vorhanden sind. Der Unterschied ist ein sehr auffallender und steht im schroffen Gegensatz zu demjenigen, was wir auf Grund der gleichartigen Diffusion von Glucose in beide Flüssigkeiten hinein erwartet hatten. Wir können hier nicht eine Bindung von Jod an Serumkolloide zur Erklärung heranziehen, denn eine solche würde nur für das Gehirnwasser die Frage erläutern, während für das Kammerwasser eine Bindung die Erklärung unmöglich machen würde. Eine solche Bindung war an und für sich auch unwahrscheinlich; dem Jod analoge Ionen wie z. B. das Chlor sind bekanntermaßen im Serum höchstens nur für den weitaus kleinsten Teil gebunden. Vorversuche hatten uns auch gelehrt, daß eine derartige Bindung an Serumkolloide auch für das Jod nicht besteht; wenn einem Blutserum eine bekannte Jodkalimenge zugesetzt wurde, war im Ultra-

filtrat dieses Serums die Jodkonzentration dieselbe, als wenn nichts gebunden wäre. Gerade deshalb waren wir berechtigt, für die Untersuchung des Blutplasmas auf Jod ersteres zu ultrafiltrieren.

Es liegt auf der Hand, den Unterschied zwischen Kammerwasser und Gehirnwasser betreffs des Durchtritts von Jod durch eine überaus verlangsamte Diffusion von Jod in letztere Flüssigkeit hinein zu erklären. Bevor wir jedoch darauf schließen konnten, mußten wir erst die Möglichkeit ausschließen können, daß zwar das Jod mit gehöriger Geschwindigkeit in das Gehirnwasser übergetreten war, aber von Gehirngewebe in intensivster Weise festgelegt wurde, ebenso wie wir dies in geringerem Maße auch für den Zucker anzunehmen genötigt waren. Zwar war eine so überaus starke Bindung, wie hier benötigt war, um derartige Konzentrationsunterschiede dauernd zu unterhalten, an und für sich unwahrscheinlich. Dennoch war es von vornherein nicht unmöglich, wo in der Pharmakologie bei der Erklärung der Jodwirkung immer mit einer Zersetzung der Jodsalze gerechnet wird.

Dies zu untersuchen, haben wir einem Kaninchen innerhalb 2 Tagen etwa 3 g Jodkali intraperitoneal gegeben und 2 Stunden nach der letzten Gabe Blut, Gehirn- und Kammerwasser entnommen und auf ihren Jodgehalt untersucht. Unmittelbar darauf wurde das Tier getötet und $2^1/_2$ g der entbluteten Gehirnmasse und daneben $2^1/_2$ g Muskelgewebe nach der Baumannschen Methode[1]) mittels Kali und Kalisalpeter zerstört und nach Lösung in Wasser und Ansäuerung mit verdünnter Schwefelsäure colorimetrisch mittels Chloroformausschütteln auf Jod untersucht.

Sowohl im Gehirngewebe wie im Muskelfleisch waren keine nachweisbaren Mengen von Jod vorhanden, während im Blutplasma und im Kammerwasser die Konzentration etwa 1 : 2000 betrug; im Gehirnwasser war die Reaktion negativ.

Es bleibt deshalb keine andere Erklärungsweise übrig als diese, daß die überaus niedrige Konzentration des Jods in der Cerebrospinalflüssigkeit gegenüber der im Blutplasma und im Kammerwasser auf eine geringere Permeabilität der betreffenden Membranen im Gehirn für Jod bezogen werden muß; und zwar betrifft es nicht ein absolutes Zurückhalten, sondern nur eine verlangsamte Diffusion.

Hieraus muß man an erster Stelle schließen, daß die Membranen zwischen Blut und Cerebrospinalflüssigkeit einerseits (Capillarendothel, Piaendothel, Epithel des Plexus chorioideus) und diejenigen im Auge (Capillarendothel, Irisendothel, Epithel des Corpus ciliare) in verschiedener Weise aufgebaut sind. Die Gehirnmembranen, auch die vom Capillarendothel gebildeten (man denke an die perivasculären Lymphräume) nehmen eine Sonderstellung ein in dem Sinne, daß sie zwar einige Krystalloide (wie Zucker) durchlassen, andere aber viel schwieriger

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**. 1. 1897.

und solches ohne Rücksicht auf Lipoidlöslichkeit (für Glucose und Jodkali sehr gering) und Molekulgröße (für Glucose gewiß nicht kleiner als für Jodkali).

Es liegt nahe, bei der Erklärung dieses verschiedenen Betragens gegenüber verschiedenen Krystalloiden an die Adsorptionsbindung des Zuckers zu denken als ein Hilfsmittel für die Durchgängigkeit. Wo fernerhin die Zusammensetzung des Gehirngewebes eine überaus spezifische ist, ließe es sich sehr gut denken, daß auch in den sich hier vorfindenden Membranen diese abweichende Zusammensetzung sich wiederfinde. Verschiedene Zellen in unserem Körper weisen eine verschiedene Permeabilität auf, warum nicht verschiedene Membranen, auch wenn sie alle von Capillarendothelien gebildet werden? Läßt sich auch nicht eine Dialysemembran durch Zusatz von Fetten usw.[1]) für Kochsalz impermeabel machen?

Es kann schließlich gefragt werden, ob die hier für Jodsalze nachgewiesenen Verhältnisse auch für andere dem Jod nahestehende Elemente, z. B. für Brom und an erster Stelle für das Chlor selbst gelten. Es wäre dies nicht unwahrscheinlich, aber für Chlor, wo die Feststellung an erster Stelle wichtig sein würde, sind unzweideutige Versuche sehr schwierig. Wenn es auch vielleicht möglich wäre, durch überaus große Chlorgaben während längerer Zeit den Chlorspiegel des Blutes beträchtlich zu steigern, so würde dennoch eine etwaige Erhöhung der Chlorkonzentration nicht nur durch Diffusion desselben aus dem Blute, sondern auch durch Wasserabgabe des Gehirnwassers an das in diesem Falle gewiß hypertonische Blut erklärt werden können.

Wenn sich die verlangsamte Diffusion für Jod auch für das Chlor durchführen ließe, daß jedenfalls ebenso wie das Jod frei im Plasma vorkommt, so wäre umgekehrt der Umstand, daß ungeachtet dieser langsamen Diffusion dennoch der Chlorgehalt der Cerebrospinalflüssigkeit etwa dem des Blutplasmas entspricht, ein Hinweis darauf, daß hier von einer Flüssigkeit, welche von einer bestimmten Stelle aus in fortwährender Strömung sich befindet, nicht die Rede sein kann; in letzterem Falle sollte bei der schwierigen Durchgängigkeit für Chlor die Chlorkonzentration eine niedrige sein.

Zum Schluß möchten wir darauf hinweisen, daß der Vergleich von Blutplasma und den von uns untersuchten Körperflüssigkeiten vom Gesichtspunkte des Verhältnisses zwischen einer Bindung an Kolloide und Diffusionsgeschwindigkeit auch für andere Stoffe, wie Harnsäure, Aceton usw., noch manches Wertvolle ergeben kann. Eine mehr systematische Untersuchung solcher Stoffe in dieser Richtung hoffen wir noch ausführen zu können.

[1]) Siehe u. m. Thieulin, Cpt. rend. des seances de la soc. de biol. **83**, Nr. 30, 1920.

Zusammenfassung.

Wir können die Ergebnisse dieser Untersuchung folgenderweise zusammenfassen:

1. Das Auftreten von Fluoresceinkalium in dem Kammerwasser ist beim Kaninchen und Frosch völlig mit den Verhältnissen bei der Ultrafiltration in vitro in Einklang. Es handelt sich hier um eine Adsorptionsverbindung des Farbstoffes an Plasmakolloide.

2. Die Diffusionsgeschwindigkeit für Jodsalze ist beim Kammerwasser vom Kaninchen eine viel größere als bei der Cerebrospinalflüssigkeit. Es gibt also einen Unterschied für Glucose und Jodkali in ihrem Verhalten zu diesen Flüssigkeiten. Die Jodsalze sind im Blutserum nicht nennenswert an Kolloide gebunden. Eine solche Bindung könnte deshalb den niedrigen Gehalt des Gehirnwassers an (verabreichtes) Jod nicht erklären. Ebensowenig besteht eine große Affinität des Jods für das Gehirngewebe.

Zur Chemie der Wassermannreaktion.

II. Mitteilung.

Von

J. Forssman.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(Eingegangen am 28. September 1921.)

In meiner Arbeit[1]) über die Chemie der Wassermannreaktion (unten als WaR. bezeichnet) habe ich unter anderem auch die Einwirkung des Äthers auf die WaR. geprüft. Dabei habe ich gefunden, daß, wenn man aus einem positiven Serum die Wassermannsubstanz (unten mit WaS. bezeichnet) zusammen mit den Globulinen ausfällt, den Bodensatz in Salz- und Sodalösung löst und diese Lösung mit einer großen Menge Äther behandelt, den Äther abgießt und dann, nachdem die mit Äther behandelte Lösung so lange gestanden hat, daß sie wenig oder gar nicht nach Äther riecht, die Lösung inaktiviert, die positive Reaktion der ursprünglichen Lösung verlorengegangen ist.

Ich glaubte hieraus schließen zu können, daß die WaS. vom Äther ausgelöst wurde, also ätherlöslich war. Da ich, wenn ich der Lösung vor dem Inaktivieren den abgegossenen Äther wieder zufügte und den Äther im Vakuum bei 30° entfernte, um erst dann zu inaktivieren, die positive Reaktion der Lösung wiederfand, wurde diese meine Auffassung bestärkt. Indessen sah ich bald, daß auch ganz neuer Äther dieselbe Wirkung hierbei hatte wie solcher Äther, mit dem die positive Lösung negativ gemacht worden war. Ich stellte mir da die Verhältnisse so vor, daß nebst der freien, in Äther löslichen WaS., die die WaR. bedingt, auch gebundene und deswegen inaktive WaS. in den positiven Seren vorkomme; durch den Ätherabdampfungsprozeß würde diese freigemacht und reaktionsfähig und so träte die positive Reaktion unter den erwähnten Umständen wieder auf.

Diese Auffassung war nur als eine vorläufige zu betrachten. In neuen Versuchen habe ich sie nun nachgeprüft und gefunden, daß die Erklärung der eben besprochenen Ergebnisse eine viel einfachere ist als die in meiner vorigen Arbeit und hier oben referierte, weshalb ich diese nun berichtigen und ergänzen möchte.

---

[1]) Diese Zeitschr. **121**.

Behandelt man ein Serum oder eine ähnliche kolloidale Flüssigkeit mit Äther und wünscht den Äther zu entfernen, so hat man kaum einen anderen Indicator, daß dies gelungen ist, als daß die Flüssigkeit nicht mehr nach Äther riecht. Aber dieser Indicator genügt nicht, das habe ich betreffs der Sera gesehen (s. S. 197 meiner eben zitierten Arbeit), und dies ist auch der Fall mit anderen kolloidalen Lösungen. Trotzdem, daß die ätherbehandelten Sera oder ähnliche Lösungen nicht mehr nach Äther riechen, können sie doch noch kleine Spuren von Äther enthalten. Und es sind eben diese Ätherspuren, welche bei meinen vorigen Versuchen die Hauptrolle gespielt haben. Dies geht aus der folgenden Versuchsreihe hervor, die in Tabelle I dargestellt ist.

Tabelle I.

Ser. J, ein aktives positives Serum wurde, wie in meiner vorigen Arbeit beschrieben ist, mit Essigsäure und destilliertem Wasser gefällt, der Bodensatz in einer der ursprünglichen Serumquantität entsprechenden Menge Salz- und Sodalösung gelöst und diese Lösung mit je einem Kubikzentimeter in eine Serie von Röhrchen verteilt.

1. Ser. J.
2. Bodensatzlösung.
3. „ + 10 ccm Äther, nach 1 Stunde den Äther abpipettiert.
4. „ + 0,1 ccm Äther kurz vor dem Inaktivieren.
5. „ wie 3., aber mit Entfernung der letzten Ätherspuren durch Vakuum bei 30°.
6. „ wie 3., aber nach Wegpipettierung des Äthers wurden wieder 10 ccm neuen Äthers zugesetzt, der dann durch Vakuum bei 30° entfernt wurde.

Die obenstehenden Proben wurden alle inaktiviert und dann die WaR. mit folgendem Resultat gemacht:

	Die WaR. in untenstehenden Dosen gestellt				Kontrolle ohne Antigen
	0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	0,2 ccm
1.	+	+	+	–	–
2.	+	+	–	–	–
3.	–	–	–	–	–
4.	–	–	–	–	–
5.	+	–	–	–	–
6.	+	+	–	–	–

Noch eine ganze Reihe von positiven Seren wurden in derselben Weise und mit demselben Resultat geprüft.

Ganz wie in den Tabellen III, IV und V der vorigen Arbeit sieht man auch hier, daß durch eine Ätherextraktion (3) die positive Reaktion (2) weggenommen und durch Ätherabdampfen (6) zusammen mit der Lösung zum Wiederauftreten gebracht werden kann. Man findet aber auch, daß, wenn vor dem Inaktivieren die letzten Spuren des Äthers im Vakuum entfernt wurden (eventuelle Volumverminderungen mit destilliertem Wasser ausgeglichen wurden), die

Ätherbehandlung keine negative Reaktion der Bodensatzlösung bewirket (5) und daß, wenn man ohne Behandlung der Bodensatzlösung mit größeren Mengen Äther nur ein kleines Quantum, z. B. 0,1 ccm, zufügte und dann inaktivierte, die Bodensatzlösung auch dadurch negativ wurde.

Daß eine Ätherbehandlung unter oben erwähnten Umständen eine positive Reaktion in eine negative umwandeln kann, hängt also nur davon ab, daß kleine Mengen Äther nach dem Abpipettieren doch in der Flüssigkeit zurückbleiben und daß es die Inaktivierung der positiven Lösung zusammen mit diesen Ätherspuren ist, welche die positive Reaktion vertilgt. Und hierfür genügen offenbar sehr kleine Äthermengen, so kleine, daß die Bodensatzlösungen gar nicht nach Äther riechen. Durch Anwesenheit von wechselnden Äthermengen bei der Inaktivierung wird auch die positive Reaktion in verschiedenem Grade aufgehoben; daher erklärt sich der Befund in meiner vorigen Arbeit, daß alle Bodensatzlösungen nicht in demselben Grade die positive Reaktion nach Ätherextraktion verlieren.

Man versteht nun auch sehr gut, woher es kommt, daß die Probe 6 hier und entsprechende Proben in Tabelle IV und V meiner vorigen Arbeit positive Reaktion aufwiesen, obgleich die nur mit Äther extrahierten Bodensätze, wie z. B. 3, negativ reagierten. Das beruht ja offenbar darauf, daß jene nicht wie diese zusammen mit Äther inaktiviert worden sind, sondern vor dem Inaktivieren vollkommen von Äther befreit wurden, weshalb auch die positive Reaktion hier nie zerstört worden war.

Infolge der veränderten Auffassung von der Ätheinwirkung auf die WaR. der Bodensatzlösungen, die ich durch diese letzten Versuche erworben hatte, nahm ich wieder auf zu prüfen, wie die Sache bei den Seren sich verhielte. Ich hatte ja allerdings schon im Anfang meiner Untersuchungen über die Ätheinwirkung auf die WaR. nachgesehen, ob der Äther die Reaktion von positiven Seren beeinflußte, aber bei den wenigen Seren, die ich damals mit gleichzeitiger Inaktivierung prüfte, nur negative Ergebnisse gefunden, weshalb ich die Bearbeitung der Sera in diesem Punkte als aussichtslos verließ. Nun möchte ich die Frage von dem neuen Gesichtspunkte aus ausführlicher und auf neue Versuche gestützt besprechen.

Schon früh hat man der Frage, wie der Äther auf die WaR. der Sera wirkt, seine Aufmerksamkeit gewidmet. Die bedeutsamsten Untersuchungen hierüber stammen m. E. von Pick und Pribram[1]). Diese Verfasser behandelten dabei die Sera folgenderweise:

[1]) Diese Zeitschr. **40**, 437.

„10 resp. 20 und 40 ccm der betreffenden Sera wurden im Ätherextraktionsapparat nach Schacherl verschieden lange Zeit — von 6 und 8 Stunden bis zu 60 Stunden — mit Äther extrahiert. Das mittels Scheidetrichters von der leicht gelblich oder schwach rötlich gefärbten Ätherschicht abgehobene Serum wurde, wo dies nötig war, mittels Durchlüftung oder durch kurzes Stehenlassen im Brutschrank bei 38° von dem eventuell die Reaktion störenden, im Serum gelöst gebliebenen Äther befreit, wobei jede Konzentrationsänderung vermieden wurde."

Als Resultat ihrer Untersuchungen geben Pick und Pribram das Folgende an: Betreffs der negativen Sera, „daß ätherextrahiertes normales Menschenserum sich von dem nativen nicht unterscheidet"; betreffs der positiven Sera sagen sie dagegen: „Ganz anders verhält sich das Luesserum. Hier hemmt bereits das native Serum bei Anwesenheit von Herzextrakt die Hämolyse (Wassermannsche Komplementablenkung), ebenso das extrahierte. Ohne Zusatz von Herzextrakt erweist sich natives Luesserum wirkungslos, während extrahiertes die Hämolyse vollständig aufhebt. Es hat demnach das Luesserum durch die Ätherextraktion im Gegensatz zu normalem Menschenserum eine Änderung erfahren. Die charakteristische Eigenschaft des Luesserums, welche es durch Zusatz des Herzextraktes gewinnt, kommt dem ätherextrahierten Luesserum an sich zu."

Es ist also Selbsthemmung, welche die Ätherbehandlung den positiven Seren gibt, den Angaben von Pick und Pribram gemäß, während negative Seren keine Veränderung aufweisen.

Nun habe ich eine große Menge positiver und negativer Sera in dieser Beziehung durchgeprüft.

Die Sera sind dabei teils nur mit Äther überschichtet und einmal umgeschüttelt, teils in Schüttelmaschine mit Äther 1—8 Stunden geschüttelt worden, um dann nach dem Abpipettieren des Äthers in unten beschriebener Weise behandelt zu werden.

Beim einfachen Überschichten der Sera mit Äther und einmaligen Umschütteln habe ich bei diesem größeren Serummateriale dieselben Resultate wie früher bekommen, d. h. daß das aktive negative Serum fast immer positiv und selbsthemmend wird, während das inaktive unverändert bleibt; nur muß ich zufügen, daß im Gegensatz zu meinen früheren Befunden die positiv und selbsthemmend gewordenen aktiven Sera nicht alle beim Inaktivieren negativ werden und die Selbsthemmung aufgeben, wie Tabelle II zeigt.

Schüttelt man dagegen mit großen Mengen Äther negative Sera, wie Pick und Pribram gemacht haben, pipettiert den Äther genau ab und wärmt die Sera $^1/_2$ Stunde zu z. B. 37°, um den Äther zu entfernen, so erweisen sich diese Sera, gleichviel ob sie aktiv oder inaktiv waren

— die inaktiven freilich im geringeren Grade —, in der Regel positiv und selbsthemmend. Dasselbe Resultat bekommt man auch beinahe immer, wenn man die ätherisierten Sera zu 40° erwärmt; steigert man zwar die Temperatur auf 45°, 50° oder sogar bis auf 56°, sicherer, je höher die Temperatur ist, so kehrt die negative Reaktion zurück und die Selbsthemmung verschwindet — doch dies nicht vollkommen ausnahmslos.

Tabelle II.

					Kontrolle ohne Antigen
			0,2	0,1	0,08	0,01	0,2 ccm
1.	Ser. K aktiv		—	+	+	+	—
2.	„ „ „	inaktiv	—	—	—	—	—
3.	„ „ „	0,10 ccm Äther	—	+	+	+	—
4.	„ „ „	0,10 „ „	+	—	—	—	+
5.	„ „ „	0,20 „ „	+	+	+	+	—
6.	„ „ „	0,20 „ „	+	—	—	—	(+)
7.	„ „ „	0,40 „ „	+	+	+	+	+
8.	„ „ „	0,40 „ „	+	—	—	—	+
9.	„ „ inaktiv	0,10 „ „	—	—	—	—	—
10.	„ „ „	0,20 „ „	—	—	—	—	—
11.	„ „ „	0,40 „ „	—	—	—	—	—

3 Stdn. in offenen Röhrchen gelassen, bis kein Äthergeruch bemerkbar war.

Die positiven Sera verhalten sich bei Ätherbehandlung folgenderweise. Bei einfachem Zusetzen von Äther zu positiven Seren ohne Schütteln werden die Sera selbsthemmend unter denselben Verhältnissen, wie dasselbe bei negativen Seren vorkommt.

Das Schütteln der aktiven positiven Sera mit Äther, wie oben beschrieben ist, nachheriges Abpipettieren des Äthers und weitere Entfernung des Äthers durch Erwärmung der Sera $^1/_2$ Stunde zu 40° machen die Sera, ganz so wie Pick und Pribram es angeben, selbsthemmend; eine Selbsthemmung, die noch bei Erwärmung der Sera zu 45° $^1/_2$ Stunde vollkommen besteht, also beständiger ist als die entsprechende Selbsthemmung bei den negativen Seren. Wärmt man diese mit Äther geschüttelten aktiven positiven Sera $^1/_2$ Stunde bei 56°, also inaktiviert man sie, so sieht man mitunter, daß sowohl Selbsthemmung wie auch die positive WaR. verschwindet, während in anderen Fällen die Selbsthemmung besteht, die positive Reaktion aber entweder unverändert bleibt oder schwächer wird und in noch anderen Fällen die Selbsthemmung verschwindet, die positive Reaktion, allerdings abgeschwächt, besteht (siehe Tab. III, IV). Ein buntes Resultat der Ätherein wirkung. Daß Pick und Pribram diese Wechselungen nicht gefunden haben, hängt ja davon ab, daß diese Verfasser, soweit ich gesehen habe, nur ein positives Serum untersucht haben. Es muß auch hervorgehoben werden, daß die hier und die von Pick und Pribram benutzte Wassermann-

technik verschieden sind, weshalb die Resultate vielleicht nicht verglichen werden können.

Ähnliche wechselnde Ergebnisse habe ich auch bei derselben Ätherbehandlung von inaktiven positiven Seren mit folgender Erwärmung der Sera zu 40° bekommen.

Die Ursachen, warum die Ätherbehandlung so verschiedene Folgen betreffs der WaR. der Sera mit sich führt, sind nicht leicht zu finden. Wahrscheinlich beruhen sie jedoch auf der verschiedenen Zusammensetzung der Sera und auf den Veränderungen der Dispersität, welche die Ätherein wirkung mit folgender Erwärmung hervorruft. Daß Dispersitätsänderungen bei der Ätherbehandlung wirklich eintreten, sieht man am deutlichsten daraus, daß, wie schon von mir früher erwähnt ist, aktive Menschensera beim Zusatz einer gewissen, für verschiedene Sera verschiedenen großen Äthermenge und folgenden Inaktivieren sogar koagulieren. Die letzten Ätherspuren zu entfernen durch einfaches Abdampfen, auch zusammen mit gelinder Erwärmung, ist, soweit meine Erfahrung geht, nicht bei allen Seren möglich. Mehrere ätherbehandelte, aktive, negative Sera, von welchen der Äther so genau wie möglich abpipettiert war, und welche dann bei 25° 24 Stunden in Uhrgläsern zum Abdampfen der letzten Ätherspuren hingestellt wurden und auch nach dieser langen Zeit gar nicht nach Äther rochen, erwiesen sich doch als selbsthemmend, eine Ätherwirkung, die erst durch Inaktivierung weggenommen wurde. Und noch stärker als die negativen Sera behalten positive Sera im allgemeinen den darin gelösten Äther. Durch Vakuum bei 30° gelingt es besser, obgleich nicht konstant, die letzten Spuren zu entfernen und nach Inaktivieren deswegen gleich wirkende Sera zu bekommen, wie dieselben inaktiven Sera ohne jede Äthereinwirkung.

Unter Berücksichtigung dieser Schwierigkeiten, die letzten Ätherspuren zu verjagen, ist es dann wohl möglich, daß die Veränderungen betreffs der WaR., welche durch die Ätherbehandlung hervorgerufen werden, wie bei den Bodensatzlösungen davon herrühren, daß nicht die vorgenommene Ätherextraktion, sondern die Erwärmung des Serums zusammen mit den nach dem Abpipettieren des Äthers und dessen Abdampfen beim Stehen doch zurückgebliebenen Ätherresten die Veränderung bewirkt.

Daß es jedenfalls hauptsächlich sich so verhält, geht tatsächlich aus der folgenden Tabelle III hervor.

Hier sieht man, daß die Inaktivierung mit einer kleinen Äthermenge ganz dieselbe Folge hat wie die Extraktion mit einer 100 mal größeren Ätherquantität (4 und 2) und bei 4 ist es doch keine Frage um Extraktion. Daß 3 ein wenig verändert ist, hängt sicherlich davon ab, daß es auch nicht mit Vakuum bei 30° hier gelungen ist, den Äther vollkommen zu entfernen, sondern daß ein wenig zurückgeblieben ist. Die Pro-

ben 5—10 sind mitgenommen, um zu zeigen, daß durch die kleinen Ätherdosen man alle Variationen betreffs der WaR. erzielen kann, welche ich als Folgen der Extraktion mit großen Äthermengen gesehen und oben erwähnt habe. Die Extraktionen der positiven Sera mit Äther bedeuten demnach sehr wenig, soweit es die WaR. betrifft, sondern die Veränderungen, welche dabei erhalten werden, sind ganz einfach das Resultat von Ätherresten, die in den Seren nach Abpipettieren des Äthers und Erwärmung doch zurückbleiben.

Tabelle III.

1. Ser. J,
2. „ „ 10 ccm Äther, nach 1 Std. den Äther abpipettiert,
3. „ „ 10 „ „ „ 1 „ „ „ „ , die letzten Ätherspuren durch Vakuum bei 30° entfernt,
4. Ser. J, 0,1 ccm Äther,
5. Ser. F,
6. 1 ccm „ „ 0,1 ccm Äther,
7. „ V,
8. 1 „ „ „ 0,1 „ „
9. „ R,
10. 1 „ „ „ 0,1 „ „

Die Proben wurden inaktiviert und dann die WaR. in den gewöhnlichen Dosen angestellt.

	0,2 ccm	0,1 ccm	0,03 ccm	0,01 ccm	Kontrolle ohne Antigen 0,2 ccm
1.	+	+	+	—	—
2.	+	+	+	—	+
3.	+	+	(+)	—	(+)
4.	+	+	+	—	+
5.	+	(+)	—	—	—
6.	(—)	—	—	—	—
7.	+	+	—	—	—
8.	(+)	—	—	—	(+)
9.	+	+	+	+	—
10.	+	+	+	+	+

Diejenigen Schlußfolgerungen, welche ich aus den Ätherversuchen in meiner vorigen Arbeit gezogen habe, sind nach dem, was oben gesagt, nicht stichhaltig. Die hier aufgewiesene, auffallende Ätherempfindlichkeit der WaR läßt sich, scheint es mir, ebensogut als Folge einer Dispersitätsänderung wie einer chemischen Zerlegung der WaS. durch Äther bei Erwärmung deuten.

Über die Verteilungskoeffizienten der Diuretica und Narkotica und die Theorie der Narkose.

Von

Giuseppe Aiello (Rom).

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 19. Juli 1921.)

Die Lipoidtheorie der Narkotica ist vor mehr als 20 Jahren gleichzeitig und unabhängig von Hans Horst Meyer und Overton aufgestellt worden.

Sie ist aufgebaut nicht etwa auf den besonderen chemischen Eigenschaften der Verbindungen und ihren narkotischen Effekten, sondern auf dem physikalisch-chemischen Verhalten der narkotischen Verbindungen, d. h. ihrer Löslichkeit in fetten Ölen, insbesondere auf den Verteilungskoeffizienten dieser Verbindungen zwischen Wasser und Öl. Die Wirkung der narkotischen Mittel ist nach ihr abhängig von den Verteilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser. Die von Hans Horst Meyer ausgearbeiteten Tabellen von Schwellenwerten der narkotischen Mittel und den Verteilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser zeigen die Schwellenwerte narkotischer Substanzen umgekehrt proportioniert dem Verteilungskoeffizienten. Es sind die Wirkungen und ebenso der Verteilungskoeffizient nach dem Verteilungssatze abhängig von Temperatur. Im Ausbau dieser Theorie kamen dann Kurt Horst Meyer und Hans Gottlieb-Billroth[1]) zu dem Schlusse, daß Narkose stets dann eintritt, wenn ein beliebiger chemisch indifferenter Stoff in einer bestimmten molekularen Konzentration in die Zellipoide eingedrungen ist. Diese Konzentration ist von der Tierart, der Zellart usw. abhängig, im großen und ganzen aber unabhängig von den Eigenschaften des Narkoticums.

Die Theorie von Hans Horst Meyer, nach der das Wesentliche bei der Narkose das Auflösen des indifferenten Mittels in den Lipoiden ist, hat sehr zahlreiche kritische Untersuchungen zur Folge gehabt. So hat besonders Hans Winterstein in seiner Monographie über Narkose[2]) ein großes experimentelles Material zusammengetragen, welches nicht in Übereinstimmung steht mit den Fundamenten der Meyer-Overtonschen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **112**, 55. 1920.

[2]) Bei Julius Springer, Berlin 1919.

Theorie. Um nicht zu breit zu werden, verweisen wir auf diese Kritik[1]), die sich auf Arbeiten von Ruhland, Lepeschkin, Winterstein selbst und auf physikalisch-chemische Untersuchungen von Loewe[2]) stützt, ebenso auf die Adsorptionsvorgänge. Bei der Aufnahme der Narkotica durch die Lipoide ist ein Adsorptionsvorgang zu sehen, der eine sehr wichtige Rolle spielt, so daß Loewe meint, daß die Aufnahme der Narkotica nicht dem Verteilungssatze folgt, sondern einen Adsorptionsvorgang darstelle. Doch sind die Untersuchungen Loewes von Höber kritisiert worden und sie treffen nicht durchaus die Meyersche Narkosetheorie, aber Hans Horst Meyer selbst hat, auf die Versuche von seinem Schüler Chiari[3]) gestützt, die Ansicht ausgesprochen, daß die bloße Lösung einer indifferenten Substanz in äquimolekularer Konzentration in den Zellipoiden nicht das Wesentliche für die Narkose sein kann, sondern andere, dadurch verursachte Änderungen. So kann man zu der Ansicht gelangen, daß die Aufnahme der Narkotica eine Erweichung der Lipoide zur Folge habe und daß die durch vermehrte Durchlässigkeit der Zellen bedingten, geänderten chemischen Wechselwirkungen die Ursache der Narkose sein könnten. Aber gegen diese Erklärung spricht der Umstand, daß Chiari bei seinen Versuchen an der Leber nur durch große Mengen Äther bei länger dauernder Einwirkung eine Vermehrung der Autolyse bekam. Es sind dies dann Konzentrationen, die zu einer irreversiblen Änderung führen und zwar zu einer Cytolyse, ein Vorgang, der bei der Narkose selbst sicher keine Rolle spielt. Ein anderer Schüler Meyers, Knaffl-Lenz, kommt nach seinen Versuchen[4]) zu der gegenteiligen Annahme, daß die zur Narkose notwendige Konzentration nicht etwa eine Erweichung, sondern eine Verdickung der Zellkolloide mit verringerter Durchlässigkeit hervorrufe, während größere Mengen das Gegenteil bewirken. Danach wäre die Narkose aufzufassen als eine durch reversible Permeabilitätsverringerung verursachte Verringerung oder Aufhebung der Erregungsleitung. „Diese Permeabilitätsherabsetzung könnte durch Überschichtung der als Membran fungierenden Zellkolloide durch Narkotica und Verdrängung der elektromotorisch wirksamen Ionen bedingt sein. Sie könnte aber auch erklärt werden durch Verdichtung der Kolloide, hervorgerufen durch Entquellung derselben. Die irreversible Permeabilitätssteigerung bei höheren Konzentrationen wäre danach verursacht durch Lösung der lipoiden und Ausflockung der proteinen Kolloide. Das anfängliche Erregungsstadium bei der Narkose, das nach dieser Auffassung auf einer Permeabilitätssteigerung beruhen müßte, bleibt vorläufig schwer verständlich. Möglicherweise entspricht der Entquellungsvorgang und die damit verbundene Flüssigkeitsströmung selbst diesem Stadium."

Wie immer auch diese Verhältnisse liegen mögen, so muß man gegen den experimentellen Teil der Theorie, auf dem ja

[1]) S. 216ff.

[2]) Loewe, diese Zeitschr. **42**, 150. 1912 und **42**, 190. 1912.

[3]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 256. 1919.

[4]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **84**, 67. 1919.

schließlich die ganze Theorie aufgebaut ist, sagen, daß sie nicht auf einem Experiment aufgebaut ist, welches den tatsächlichen Verhältnissen entspricht, sondern auf einem Analogieschluß, denn die Experimente von Baum, auf deren teilweise Unzulänglichkeit ja bereits Loewe hingewiesen hat, beziehen sich nicht auf das Verhalten der Narkotica und auf die Teilungskoeffizienten zwischen Blut und Gehirnlipoiden, sondern sie beziehen sich lediglich auf das Verhalten der Narkotica in ihrem Lösungsverhältnis zwischen Wasser und Öl. Nun ist aber Wasser ein völlig anderes Lösungsmittel als Blut, bzw. Blutserum, wie es ja aus sehr vielen Tatsachen bekannt ist, so z. B. löst sich Harnsäure in Wasser nur im Verhältnis von 1 : 40 000, während Serum Harnsäure im Verhältnis von 1 : 1000 lösen kann, wie die Untersuchungen von Wilhelm His gezeigt haben. Andererseits, was viel wichtiger ist, sind ja nicht die Fettmassen in den Organismen das Organ, auf welches die Narkotica wirken, sondern es sind das Gehirn und das übrige Nervensystem, und das im Wasser unlösliche Fett unterscheidet sich von dem komplizierten Gemenge der verschiedenartigen Lipoide ungemein, ja man kann sagen, daß keinerlei Analogie besteht, denn die Phosphatide, sowohl der gesättigten, als auch der ungesättigten Gruppen, sind im Wasser quellbare Verbindungen und geben kolloidale Lösungen, die übrigens im Nervensystem wenigstens mit den Eiweißkörpern, die ja ebenfalls hydrophile Kolloide sind, sehr innig gemengt sind und man kann für das Gehirn wenigstens nicht sagen, daß es sich hier um Zellmembranen handelt, die aus Lipoiden bestehen und daß deren vermehrte oder verminderte Durchlässigkeit von wesentlicher Wichtigkeit wäre. Das gilt aber nicht nur von den Phosphatiden, sondern auch von den anderen Bestandteilen des Lipoidgemenges, z. B. von den phosphor- und schwefelfreien Cerebrosiden. Nur das einzige Cholesterin bildet scheinbar eine Ausnahme, da das reine Cholesterin, welches ja im Gehirn und Nervensystem in großer Menge vorkommt, ebenso im Wasser unlöslich ist wie Öl, aber das Cholesterin kommt in diesem ungelösten Zustand im Nervensystem ja gar nicht vor. Es handelt sich auch gar nicht um Löslichkeit oder Unlöslichkeit im Wasser, sondern es handelt sich darum, daß das Cholesterin im Milieu der übrigen, es an Menge überwiegenden Kolloide gelöst erscheint, so daß die häufig geäußerte Ansicht von Hans Horst Meyer,

als ob es sich um Lösen dieser „Cholesterinklammern" handeln würde, wohl nur mit großer Vorsicht in Betracht gezogen werden kann.

Unsere Ausführungen sollen vorerst nur zeigen, daß der Analogieschluß vom System Wasser—Öl auf das System Blut—Lipoidgemenge—Eiweiß durchaus den Tatsachen nicht entspricht, sondern daß das tatsächliche Verhältnis wesentlich anders ist.

Es sind wohl Versuche gemacht worden und zwar von Gensler[1]), die es ungefähr gestatten auf den Verteilungskoeffizienten zwischen dem System Blut und Gehirn Schlüsse zu ziehen. Gensler hat versucht bei Tieren die Verteilung des Neuronals, Bromurals und Adalins zu studieren, ein Studium, welches dadurch erleichtert wird, daß anorganische Bromsalze in Lipoiden nicht löslich sind, während die drei untersuchten bromhaltigen Verbindungen darin löslich sind, so daß man durch Brombestimmungen in den Geweben die Verteilung dieser drei Bromverbindungen feststellen kann. Es zeigte sich nun für Adalin, daß bei einem Verhältnis des Gehirns zum übrigen funktionierenden Gewebe von 9,45%, in 100 g Gehirn $2^1/_2$ mal mehr Adalin vorhanden war, als in gleichem Gewicht funktionierender Gewebe, das Blut inbegriffen, aber von dem gesamten resorbierten Adalin war nur 1,1% im Gehirn. In zwei anderen Versuchen waren die Resultate nicht gleich. In einem war in gleicher Gewichtsmenge Gehirn und funktionierendem Gewebe im Gehirn 1,8 mal mehr Adalin und von dem gesamten resorbierten Adalin fand sich im Gehirn 1,4%. Im dritten Versuch wurde im Gehirn 1,6 mal mehr Adalin gefunden und von dem gesamten resorbierten Adalin waren nur 0,8% im Gehirn. Im Durchschnitt von mehreren Versuchen, die untereinander sehr stark differierten, betrug der prozentuale Gehalt im Mittel bei Neuronal 1,4%, bei Bromural 1,2%, bei Adalin 1,1%, wobei die gefundenen Werte untereinander 80—90% betragende Unterschiede zeigten. Trotzdem kam man auf Grund dieser Versuche sagen, daß sich die absolut größte Menge des resorbierten Schlafmittels nicht etwa im Gehirn, sondern im Blut findet, ähnlich wie bei der Magnesiumnarkose, aber jedenfalls kann man auf Grund der Genslerschen Versuche sagen, daß die bromhaltigen Hypnotica der Fettreihe relativ im größten Maße vom

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **79**, 51. 1916.

Gehirn aufgenommen werden, während absolut sie hauptsächlich im Blut vorhanden sind.

Es war für uns von großem Interesse zu studieren, wie sich eine andere Gruppe von Verbindungen verhält, insbesondere wollten wir auch untersuchen, ob die Gruppe der Diuretica lipoidlöslich, wie sich dann der Verteilungskoeffizient verhält zwischen Öl und Wasser, welche Differenzen sich ergeben, wenn man die eine Phase, Wasser, gegen Serum austauscht. Nach den Erfahrungen, die wir dann gemacht hatten, war es natürlich naheliegend auch diese Änderung, Wasser gegen Serum, auf einige Schlafmittel auszudehnen. Da nun die Verbindungen der Puringruppe ungemein schwache Basen sind, also ebenso wie Veronal etwa, zu den indifferenten Verbindungen zu zählen sind, so war es von großem Interesse zu sehen, wie solche exzitierende und diuretische Substanzen, die sicherlich keine Narkotica sind, sondern deren physiologische Antagonisten, sich bei der Versuchsanordnung von Hans Horst Meyer und Baum verhalten und wie sich diese Resultate ändern, wenn man das eine Lösungsmittel, Wasser, welches den Verhältnissen in der Wirklichkeit nicht entspricht, gegen Blutserum austauscht und sowohl die Löslichkeitsverhältnisse der Verbindungen, als auch den Verteilungskoeffizienten dem Öl gegenüber studiert. Nun kann man von keinem dieser Mittel behaupten, daß es ein Schlafmittel ist, vielmehr ist das Coffein ein Antagonist der Schlafmittel und wir wissen, daß bei Coffeinvergiftungen man im Gehirn reichliche Mengen von Coffein antrifft, so daß kein Zweifel bestehen kann, daß das Gehirn für Coffein in hohem Maße aufnahmsfähig ist. Wir haben nun unsere Versuche in folgender Weise angestellt:

Methodik.

Da Loewe gegen die Baumsche Anordnung der Versuche sehr wichtige Einwendungen erhoben hat, weil Baum für die Ermittlung des Teilungskoeffizienten die gesättigte, wässerige Lösung des Narkoticums benützte, trotzdem bei höheren Konzentrationen Abweichungen von der Konstanz des Teilungskoeffizienten vorkommen, haben wir unsere Methodik in der Weise gewählt, daß wir nicht von der gesättigten Lösung ausgingen, sondern von einer weniger als gesättigten. Wir haben zum Beispiel beim Coffein, daß sich zu 1,3% im Wasser löst,

eine 1 proz. Coffeinlösung verwendet. Von dieser entnahmen wir mit einer Pipette genau 50 ccm und überschichteten diese Lösung mit genau 50 ccm eines reinsten Olivenöles in einer dickwandigen Flasche, die 300 ccm faßte und schüttelten die wohlverschlossene Flasche zwei Stunden auf einer elektrischen Schüttelmaschine von größter Geschwindigkeit. Bei Unterbrechungen des Schüttelns sah man, daß der Inhalt der Flasche vollständig emulsioniert und ganz schaumig war. Man schüttet nun den Inhalt in einen Scheidetrichter und läßt sechs Stunden die Flüssigkeit sich scheiden. Die wässerige Lösung enthält noch fein verteiltes Öl und wird zentrifugiert. Aber selbst nach mehrmaligen Zentrifugieren ist immer noch ein wenig Öl emulsioniert, eine Beobachtung, die auch Siegfried Loewe gemacht hat. Wir versuchten nun auf sehr verschiedene Weise mit Lösungsmitteln diesen letzten Rest von Öl abzuscheiden, mit Lösungsmitteln, die den Coffeingehalt nicht beeinflussen, aber es ist uns dies auf keine Weise gelungen. Hingegen konnten wir durch ein sehr einfaches Verfahren, klare wässerige Lösungen erhalten, indem wir die Emulsion durch Zusatz von einigen Zentigramm Kochsalz zerstörten und nun filtrierten. Diese wässerige Lösung haben wir nun, da sie ja kochsalzhaltig war und wir sie daher nicht direkt durch Eindampfen der Lösung zur Wägung bringen konnten, entweder in der Schüttelmaschine mit Chloroform oder noch besser mit einem kontinuierlich wirkenden Extraktionsapparat für Lösungsmittel die schwerer sind als Wasser, erschöpfend extrahiert und die filtrierte Chloroformlösung in einer gewogenen Krystallisierschale vollständig verdampft. Wenn im Scheidetrichter ein Magma zwischen der wässerigen und der Chloroformschichte zu bemerken ist, so empfiehlt es sich, dieses Magma noch mehrfach mit Chloroform zu extrahieren und das klare Filtrat zur Verdampfung zu bringen. Sehr wichtig ist es bei dieser Methodik, die Anwesenheit von Wasser zu vermeiden und nur ganz klare Chloroformlösungen einzudampfen, da man ja sonst etwas Kochsalz mit dem Coffein zur Wägung bringen würde. Wir sind nun so vorgegangen, daß wir nach dem Schütteln und nach dem Zentrifugieren 10 ccm der klaren Lösung abpipetierten und diese nun mit festem Kochsalz versetzten und nach dem Filtrieren mit Chloroform erschöpfend extrahierten und diese Chloroformlösung in eine gewogene Schale einengten und die

Schale wieder gewogen haben. Hierauf wurde auf das Gesamtvolumen umgerechnet und aus der Differenz zwischen dem Gehalt der ursprünglichen Lösung und dem Gehalt der Lösung nach dem Schütteln mit Öl, die in das Öl übergegangene Menge bestimmt.

Es hat sich nun für Coffein ergeben der Teilungskoeffizient:

$$\frac{0{,}1000 - 0{,}0651}{0{,}0651} = \frac{349}{651} = 0{,}53 .$$

Es war dadurch erwiesen, daß der Teilungskoeffizient zwischen Öl und Wasser 0,53 ausmacht, ein Teilungskoeffizient welcher übereinstimmt, mit dem Teilungskoeffizienten einiger Hypnotica, der zwischen den beiden Teilungskoeffizienten des Bromalhydrat und Chloralhydrat steht. Nachdem wir dies festgestellt, hatten wir nun zu untersuchen, wie sich der Teilungskoeffizient verhält oder ändert, wenn man Wasser gegen Serum vertauscht. Zu diesem Behufe mußte die Methodik der Untersuchung folgendermaßen geändert werden:

Man muß vorerst die Löslichkeit der Verbindung im Serum feststellen. Zu diesem Zwecke nimmt man 100 ccm klares, gut zentrifugiertes Pferdeserum und schüttelt dieses mit der zu prüfenden Substanz in einer Flasche mit eingeriebenem Stopfen auf der elektrischen Schüttelmaschine $^1/_2$ Stunde lang. Man überzeugt sich, daß das Serum gesättigt ist dadurch, daß ein Überschuß von ungelöster Substanz am Boden liegt. Hierauf zentrifugiert man das Serum 15 Minuten, bis die Krystalle völlig ausgeschleudert sind. Man entnimmt aus der Mitte des Zentrifugalglases das klare Serum und zwar 70 ccm. Von diesen mißt man 10 ccm genau ab, um in ihnen den Gehalt an Coffein oder anderen zugesetzten Verbindungen festzustellen und 50 ccm werden nun in gleicher Weise wie beim Wasser mit genau der gleichen Menge Olivenöl auf der Schüttelmaschine 2 Stunden lang geschüttelt. Dann läßt man im Scheidetrichter über Nacht stehen, bis sich die Serumschichte von der Ölschichte der Hauptsache nach geschieden hat. Man bekommt das Serum stark ölgetrübt. Dieses ölhaltige Serum wird auf der Zentrifuge geschleudert bis es klar wird. Dieses Serum muß dann filtriert werden.

Die Bestimmung des Coffein oder der anderen Substanzen wird nun in der Weise vorgenommen, daß man das Serum mit verdünnter Essigsäure ansäuert, einige Tropfen 1,25 proz. saurer

Kaliumphosphatlösung und 1 g Kochsalz zusetzt. Man erhitzt bis zum beginnenden Kochen, filtriert heiß und erhält auf diese Weise meist ein klares, helles Filtrat. Ist dies nicht der Fall, so setzt man neuerlich Kochsalz zu, worauf man nach neuerlichem Filtrieren ein klares, helles Filtrat erhält. Man wäscht 3—4 mal mit kleinen Mengen siedenden Wassers. Wenn das Wasservolumen zu groß ist, engt man ein und extrahiert mit dem kontinuierlichen Extraktor erschöpfend mit Chloroform, bis das abrinnende Chloroform nichts mehr aufnimmt. Die Purinbase ist nun im Kolben des Apparates enthalten, um aber die letzten Spuren nicht zu verlieren, entleert man den Inhalt des Apparates in einen Scheidetrichter, wäscht den Apparat mit Wasser und Chloroform aus, vereinigt alles und trennt die Chloroformschichte nach dem Absitzen ab, setzt nun wieder frisches Chloroform zu und schüttelt aus. Sämtliche nun klar filtrierte Chloroformportionen werden vereinigt. Das ganze Chloroform wird hierauf in einer gewogenen Krystallisierschale vorsichtig verdampft, hierauf getrocknet und gewogen. Bei diesem Versuche sehen wir, daß der Teilungskoeffizient zwischen Serum und Öl bei Coffein 0,18 ist. Man sieht also gegenüber dem Verteilungskoeffizienten des Coffeins zwischen Wasser und Öl eine Differenz, die das Dreifache beträgt. Es ist vor allem von Wichtigkeit zu konstatieren, daß große Differenzen bestehen in bezug auf die Löslichkeit dieser Substanz in Wasser und Serum. So ist Coffein im Serum löslicher als im Wasser, ebenso Theobromin; bei Theophyllin ist das Umgekehrte zu sehen. Ebenso bei Äthoxycoffein (siehe Tabelle IIIa).

Die zwei exquisiten Schlafmittel, Sulfonal und Trional, zeigen die gleiche Erscheinung wie das Theophyllin und das Äthoxycoffein. Sie sind im Serum viel schlechter löslich als im Wasser. Tabelle III und IIIa.

Tabelle I.

Diuretika	Teilungskoeffizienten: Öl / Serum	Öl / Wasser
	(Mittelwerte)	
Coffein . . .	0,43	0,18
Theobromin .	1,58	0,40
Theophyllin .	1,62	0,80
Äthoxycoffein .	1,75	0,23

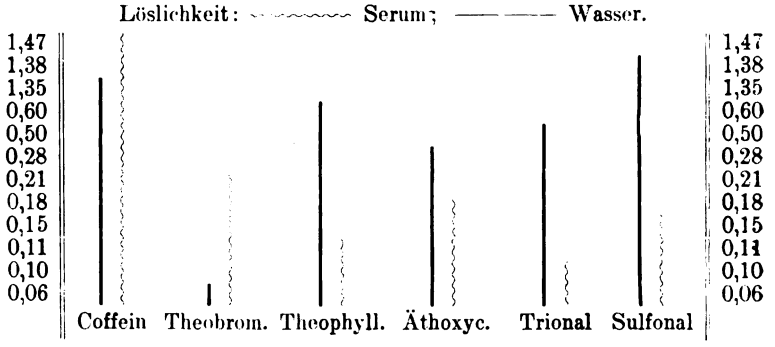
Tabelle II.

Narkotica	Teilungskoeffizienten: Öl / Wasser	Öl / Serum
Trional	4,45 (Baum) 16,0 (Overton)	0,27
Sulfonal	1,11 (Baum) 4,5 (Overton)	0,21

Tabelle III.

Löslichkeit in	Wasser %	Temp.	Serum %	Temp.
Diuretika				
Coffein	1,35	16°	1,47	18°
Theobromin . .	0,06	19°	0,22	18°
Theophyllin . .	0,60	16°	0,11	19°
Äthoxycoffein .	0,30	19°	0,18	20°
Narkotica				
Trional	0,50	16°	0,10	22°
Sulfonal	1,38	16°	0,15	22°

Tabelle. IIIa.



Betrachtet man nun die im folgenden tabellarisch zusammengestellten Resultate, so sieht man, daß der Teilungskoeffizient des Coffeins zwischen Öl und Wasser 0,54 beträgt im Mittelwert, zwischen Öl und Serum aber 0,18.

Theobromin in Wasser gibt einen Teilungskoeffizienten, welcher höher ist als der des Sulfonals und dem des Butylchlorals entspricht. Der Teilungskoeffizient des Theobromins zwischen Öl und Serum hingegen fällt auf den vierten Teil. Noch höher ist der Teilungskoeffizient zwischen Theophyllin und Wasser (1,62) und fällt auf die Hälfte im System Öl und Serum. Äthoxycoffein, welches schon ein Schlafmittel ist, hat einen noch höheren Teilungskoeffizienten, der aber von dem des Theophyllin wenig differiert. Er fällt aber im System Öl-Serum auf den achten Teil: 0,23.

Noch interessanter ist das Verhalten der wirklichen Schlafmittel Trional und Sulfonal. Trional hat nach Baum den Teilungskoeffizienten 4,5, nach Overton 16. Im System Öl-Serum

beträgt er aber nach unseren Versuchen nur 0,27. Sulfonal, welches nach Baum den Teilungskoeffizienten 1,11 hat, nach Overton 4,5, hat im System Öl-Serum den Teilungskoeffizienten 0,21 (Tabelle II).

Es ist aus diesem Versuch klar ersichtlich, daß die Bestimmung der Teilungskoeffizienten zwischen Öl und Wasser keineswegs der Wirklichkeit im Organismus entspricht, daß schon die Änderung des einen Lösungsmittels, der Ersatz des Wassers durch das der Wirklichkeit weit näherstehende Serum, die Zahlenwerte gänzlich verändert, daß es daher sehr wahrscheinlich ist, daß eine Versuchsanordnung, welche es ermöglichen würde, auch das zweite Lösungsmittel, das Öl, durch die hydrophilen Lipoide zu ersetzen, eine solche Änderung der Zahlenwerte zeigen würde, daß wohl die der Meyerschen Theorie zugrunde liegenden Zahlen ein ganz anderes Bild geben müßten. Man sieht aus diesen Versuchen klar, daß, ganz abgesehen von der Richtigkeit oder Unrichtigkeit dieser Theorie, das zahlenmäßige, experimentelle Material keineswegs als Stütze dieser Theorie herangezogen werden kann, man sieht ferner, daß eine ganz andere Gruppe von Verbindungen und zwar Exzitantien und Diuretica der Coffein-Theobromingruppe, in gleicher Weise geprüft, wie es Hans Meyer und Baum für die Hypnotica getan, Werte ergeben, die den Werten der Hypnotica mindestens sehr ähnlich sind, daß aber auch diese bei Veränderung des Systems und beim Näherbringen des ganzen Versuches an die wirklichen Verhältnisse, ebenfalls ganz andere Zahlenwerte liefern als die Experimente im System Öl und Wasser. Außerdem übersieht die Theorie, daß die flüchtigen Anaesthetica wenigstens auch mit dem Proteinanteil der Zellen physikalisch oder chemisch reagieren. Wir verweisen hierbei auf die Ansichten von Moore und Roaf[1]), die gezeigt haben, daß die meisten Anaesthetica, mit denen sie gearbeitet haben, im Serum besser löslich sind als im Wasser, daß aber nach dem Dampfdruck gerechnet die Proteide der Gewebe, insbesondere bei hoher Konzentration, anscheinend eine Assoziation mit dem Anaestheticum zeigen.

Es muß auch, um ein Bild über die ganze experimentelle Versuchsanordnung für die Meyersche Theorie zu gewinnen, er-

[1]) Prelim. Commun. Proc. Roy. Soc. London **73**, 382. 1904 und **77**, 86. 1906.

wähnt werden, daß nach den Versuchen von Verkade[1]) die Löslichkeit der Stoffe in Olivenöl ganz vereinzelt dasteht und durchaus keinen Anknüpfungspunkt für die Löslichkeit in irgendeinem anderen Fett liefert. Insbesondere die Differenzen zwischen Olivenöl und Ricinusöl in bezug auf Löslichkeit der Salicylsäure und Benzoesäure sind ganz ungeheuer, sie betragen das 4—6fache. Verkade kommt zu dem Schlusse, daß, wenn man die Zahlen für Olivenöl betrachtet, z. B. die Benzoesäure ein Narkoticum wäre und leichter in die Zellen eindringen würde als Salicylsäure. Bei Ricinusöl würde sich nach den Zahlen die entgegengesetzte Folgerung ergeben.

Experimenteller Teil.

Teilungskoeffizienten Öl-Wasser der Diuretica.

Coffein.

Versuch 1: Lösung von 1 g Coffein in 100 g Wasser.

Man nimmt 10 ccm = 0,1 g Coffein.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0651 g Coffein in 10 ccm Wasser, (Temp. 15°).

$$\frac{0{,}1000 - 0{,}0651}{0{,}0651} = \frac{0{,}0349\ (\text{Öl})}{0{,}0651\ (\text{Wasser})} = \mathbf{0{,}53}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Dieselbe Coffeinlösung: 10 ccm = 0,1 g Coffein.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0695 g Coffein in 10 ccm Wasser, (Temp. 16°).

$$\frac{0{,}1000 - 0{,}0695}{0{,}0695} = \frac{0{,}0305}{0{,}0695} = \mathbf{0{,}44}\ \text{T. K.}$$

Versuch 3: Dieselbe Coffeinlösung. 10 ccm = 0,1 g Coffein. (Temp. 17°).

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0725 g Coffein in 10 ccm Wasser.

$$\frac{0{,}1000 - 0{,}0725}{0{,}0725} = \frac{0{,}0275\ (\text{Öl})}{0{,}0725\ (\text{Wasser})} = \mathbf{0{,}37}\ \text{T. K.}$$

Theobromin.

Versuch 1: Lösung von 0,05 g in 100 g Wasser.

Man nimmt 20 ccm = 0,010 g Theobromin.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0041 g Theobromin in 10 ccm Wasser, Temp. 16°.

$$\frac{0{,}0100 - 0{,}0041}{0{,}0041} = \frac{0{,}0059}{0{,}0041} = \mathbf{1{,}45}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: 20 ccm = 0,01 g Theobromin.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0037 g Theobromin in 10 ccm Wasser, Temp. 17°.

$$\frac{0{,}0100 - 0{,}0037}{0{,}0037} = \frac{0{,}0063}{0{,}0037} = \mathbf{1{,}70}\ \text{T. K.}$$

[1]) Verkade, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., Abt. II, **52**, Nr. 13—15, S. 273. 1920.

Theophyllin.

Versuch 1: 0,50 g Theophyllin in 100 g Wasser.

10 ccm = 0,050 g Theophyllin. Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0200 g Theophyllin in 10 ccm Wasser, Temp. 18°.

$$\frac{0{,}0500 - 0{,}0200}{0{,}0200} = \frac{0{,}0300}{0{,}0200} = \mathbf{1{,}50}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: In 20 ccm = 0,100 g Theophyllin. Nach 2stündigem Schütteln mit dem gleichen Volum Öl. 0,0363 g Theophyllin in 20 ccm Wasser, Temp. 18°.

$$\frac{0{,}1000 - 0{,}0363}{0{,}0363} = \frac{0{,}0637}{0{,}0363} = \mathbf{1{,}75}\ \text{T. K.}$$

Äthoxycoffein.

Dieses wurde folgendermaßen dargestellt: 3 Teile Chlorcoffein wurde mit 2 Teilen KOH und 10 Teilen Alkohol unter Rückflußkühlung 2 Stunden lang erhitzt und dann in kaltes Wasser zugetragen und aus Wasser umkrystallisiert. Feine Nadeln. Schmelzpunkt 143°.

Versuch 1: Lösung von 0,30 g in 100 g Wasser.

Man nimmt 10 ccm = 0,030 Äthoxycoffein.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0107 g Äthoxycoffein in 10 ccm Wasser.

$$\frac{0{,}0300 - 0{,}0107}{0{,}0107} = \frac{0{,}0193\ (\text{Öl})}{0{,}0107\ (\text{Wasser})} = \mathbf{1{,}80}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Man nimmt 10 ccm = 0,0300 g Äthoxycoffein.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0111 g Äthoxycoffein in 10 ccm Wasser.

$$\frac{0{,}0300 - 0{,}0111}{0{,}0111} = \frac{0{,}0189\ (\text{Öl})}{0{,}0111\ (\text{Wasser})} = \mathbf{1{,}70}\ \text{T. K.}$$

Teilungskoeffizienten der Diuretica in Öl-Serum.

Coffein.

Versuch 1: Coffeinlösung in Serum.

Nach halbstündigem Schütteln sind 0,1503 g Coffein in 10 ccm Serum gelöst.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,1358 g Coffein in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

$$\frac{0{,}1503 - 0{,}1358}{0{,}1358} = \frac{0{,}0145}{0{,}1358} = \mathbf{0{,}10}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Coffeinlösung in Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,1442 g Coffein in 10 ccm Serum. Temp. 18°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,1150 g in 10 ccm Serum bei 18°.

$$\frac{0{,}1442 - 0{,}1150}{0{,}1150} = \frac{0{,}0292}{0{,}1150} = \mathbf{0{,}25}\ \text{T. K.}$$

Theobromin.

Versuch 1: Theobromin mit Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0210 g Theobromin in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0153 g Theobromin in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0210 - 0{,}0153}{0{,}0153} = \frac{0{,}0057\ (\text{Öl})}{0{,}0153\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}37}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Theobromin mit Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0220 g Theobromin in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0153 g Theobromin in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0220 - 0{,}0153}{0{,}0153} = \frac{0{,}0067\ (\text{Öl})}{0{,}0153\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}43}\ \text{T. K.}$$

Theophyllin.

Versuch 1: Theophyllin mit Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0105 g Theophyllin in 10 ccm Serum, Temp. 19°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0054 g Theophyllin in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0105 - 0{,}0054}{0{,}0054} = \frac{0{,}0051\ (\text{Öl})}{0{,}0054\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}94}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Nach halbstündigem Schütteln 0,0119 g Theophyllin in 10 ccm Serum.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0065 g Theophyllin in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

$$\frac{0{,}0119 - 0{,}0065}{0{,}0065} = \frac{0{,}0044\ (\text{Öl})}{0{,}0065\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}67}\ \text{T. K.}$$

Äthoxycoffein.

Versuch 1: Äthoxycoffein und Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0180 g Äthoxycoffein in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0151 g Äthoxycoffein in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0180 - 0{,}0151}{0{,}0151} = \frac{0{,}0029\ (\text{Öl})}{0{,}0151\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}19}\ \text{T. K.}$$

Versuch 2: Äthyoxycoffein mit Serum. 0,0171 g Äthoxycoffein in 10 ccm Serum, Temp. 19°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0135 g Äthoxycoffein in 10 ccm Serum, Temp. 19°.

$$\frac{0{,}0171 - 0{,}0135}{0{,}0135} = \frac{0{,}0036\ (\text{Öl})}{0{,}0135\ (\text{Serum})} = \mathbf{0{,}26}\ \text{T. K.}$$

Teilungskoeffizient der Narkotica in Öl-Serum.

Trional.

Versuch 1: Trional mit Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0102 g Trional in 10 ccm Serum, Temp. 20°.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0080 g Trional in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0102 - 0{,}0080}{0{,}0080} = \frac{0{,}0022}{0{,}0080} = \mathbf{0{,}27}\ \text{T. K.}$$

Sulfonal.

Versuch 1: Sulfonal mit Serum.

Nach halbstündigem Schütteln 0,0150 g Sulfonal in 10 ccm Serum.

Nach 2stündigem Schütteln mit Öl 0,0123 g Sulfonal in 10 ccm Serum.

$$\frac{0{,}0150 - 0{,}0123}{0{,}0123} = \frac{0{,}0027}{0{,}0123} = \mathbf{0{,}21}\ \text{T. K.}$$

Über Lipoide.

XVIII. Mitteilung.

Von

Sigmund Fränkel.

Über die Darstellung von Phosphorsulfatiden aus Gehirn.

Von

Oskar Gilbert.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 22. Juli 1921.)

Wenn man Gehirne mit Alkohol extrahiert, entsteht im alkoholischen Extrakt ein Bodensatz, den die französischen Forscher „matière blanche" (weiße Materie) benannten. Durch Behandlung mit Äther wird die weiße Materie cholesterinfrei gemacht und man erhält den in Äther unlöslichen Teil, das sogenannte Protagon. Man glaubte zuerst, daß das Protagon einheitlicher Natur sei, doch ließen sich daraus verschiedene weiße phosphorfreie Körper gewinnen, die stickstoffhaltig sind und Cerebroside genannt werden. Einige dieser Cerebroside konnte man isolieren und rein darstellen; bei ihrer Hydrolyse wurden Cerebronsäure, Galactose und eine Base „Sphingosin" gefunden; einige Cerebroside enthalten anstatt Cerebronsäure die Lignocerinsäure. Neben diesen Galactosiden findet man Verbindungen, welche kein Kohlenhydrat mehr enthalten, insbesondere nicht die Galaktosereaktion mit konzentrierter Salzsäure, Orcin und Eisenchlorid (Grünfärbung) geben.

Schon Thudichum isolierte einen Körper als Cadmiumverbindung, den er „Sphingomyelin" benannte und den Levene in vielen seiner Arbeiten[1]) untersuchte, ohne daß es ihm gelungen wäre, den Körper rein

[1]) Journ. of biol. chem. **24**, 63ff. 1916; **26**, 115ff. 1916; **31**, 627ff. 1917; **43**, 355ff. 1920.

darzustellen; bei seiner Hydrolyse dagegen konnte er einige charakteristische Spaltlinge isolieren: Phosphorsäure, Lignocerinsäure, Sphingosin und Cholin. Schon Thudichum wies daraufhin, daß man neben den phosphorhaltigen Körpern auch schwefelhaltige Substanzen antreffe und solche schwefelhaltige Substanzen wurden auch hier im Laboratorium beobachtet[1]) und Levene hat nach einem überhaupt nicht angegebenen Verfahren eine schwefelhaltige Substanz aus Ochsenhirn[2]) isoliert, ohne daß über die Konstitution etwas ausgesagt wurde.

Wir haben nun beobachtet, daß, wenn man von dem üblichen Verfahren abweicht, welches keinerlei Garantien bietet, daß sich die Substanzen nicht beim Arbeiten zersetzen, wir Körper bekommen, die Phosphor und Schwefel zugleich enthalten.

In dieser Arbeit soll vorerst das Verfahren der Darstellung dieser Verbindungen und die Hydrolyse einer Hirnsäure benannten Verbindung beschrieben werden.

Es ist schon in Arbeiten von Parcus, Kossel und Freytag darauf hingewiesen worden, daß sich die Cerebroside von den phosphorhaltigen Körpern in der Weise trennen lassen, daß man die ganze weiße Materie in die Baryumverbindung verwandelt, aus der dann mittels Alkohol sich nur die Galaktoside herauslösen lassen, während die nicht glykosidischen Verbindungen ungelöst zurückbleiben.

20 frische Menschengehirne wurden in dem in einer früheren Abhandlung beschriebenen[3]) Vakuumapparat von S. Fränkel getrocknet. Das Gesamtgewicht der Trockensubstanz betrug 5800 g. Das fein gepulverte trockene Gehirn wurde mit heißem Alkohol in 5-Literrundkolben in Portionen von je 500 g Gehirn und 2 l Alkohol so lange ausgezogen, als noch matière blanche ausfällt. Die weiße Substanz wurde mit 3 kg Äther in kleineren Portionen zentrifugiert und dann noch einmal die ganze Masse. In den Äther geht das Cholesterin, Kephalin usw.; das in Äther Unlösliche wurde so oft mit Alkohol ausgekocht als noch etwas in den Alkohol ging und ihn anfärbte. Nach dem Erkalten des Alkohols fielen die weißen Absätze aus. Das ganze Gemenge weißer Substanz, das sogenannte Protagon, wurde durch Auspressen von den letzten Resten Alkohol befreit, die ganz trockene Masse in siedendem Methylalkohol gelöst, und so lange eine methylalkoholische Ätzbarytlösung zugesetzt, als noch ein Niederschlag in der schwach siedenden Flüssigkeit entsteht und mit

[1]) Fränkel, Abderhaldens Handbuch Bd. V (I), S. 620ff.

[2]) Journ. of biol. chem. **13**, 463ff. 1912–13.

[3]) Diese Zeitschr. **74**, 170ff. 1916.

Phenolphthalein gerade freier Ätzbaryt nachweisbar war. Man läßt abkühlen, filtriert den Methylalkohol ab und wäscht die weiße Fällung mit Wasser gründlich aus; hierauf verteilt man den ganzen Niederschlag in Wasser und leitet unter oftmaligem Durchreiben mit dem Glasstabe einen Strom von Kohlensäure ein; es wird scharf abgepreßt, mehrere Male mit destilliertem Wasser, dann mit kaltem Alkohol gewaschen und nun mit siedendem Alkohol so lange aufgenommen, bis der Alkohol beim Abkühlen keine Bodensätze absitzen läßt oder der weiße barythaltige Rückstand keine Orcinreaktion gibt. Die im Alkohol unlöslichen Barytsalze wurden getrocknet. Wir haben nun gefunden, daß sich der Großteil dieser Barytsalze in Benzol löst, der übrige Teil ist in Benzol unlöslich und dadurch erhält man eine Trennung zwischen benzollöslichen und benzolunlöslichen Barytsalzen. Als Lösungsmittel ungeeignet erwiesen sich: Ligroin, Chloroform, Xylol, Solventnaphtha. Unvorteilhaft erschien uns auch die Trennung der benzollöslichen von den benzolunlöslichen Anteilen im Heißwassertrichter.

Die Trennung wurde auf folgende Weise vorgenommen: Wir kochten die Barytsalze mit reinstem Benzol aus und zentrifugierten die noch warm zum Teil in Benzol gelösten Salze. Die Absätze in den Zentrifugengläsern wurden vereinigt, in Benzol gekocht und wieder zentrifugiert. Ein beträchtlicher Anteil der Barytsalze war in Benzol unlöslich, ein Teil ging in Lösung. Schließlich bekamen wir eine blanke, rötlichbraun gefärbte Lösung, die im Vakuum bis auf ein Achtel ihres Volumens eingeengt wurde. Diese klare Benzollösung krystallisierte auch nach dem Einengen nicht, daher wurde sie mit Alkohol gefällt, der ausfallende Niederschlag abgenutscht und bis zum Verschwinden des Benzolgeruches mit Alkohol gewaschen.

In dieser Mitteilung wollen wir vorerst über den in Benzol löslichen Anteil sprechen, von dem in Benzol unlöslichen Salze wurde nur der Schmelzpunkt gemacht, der bei 278° lag. Das benzollösliche Salz zeigte bei 198° Bräunung und zersetzte sich bei 215°. Wir versuchten nun diesen Körper weiter zu reinigen. Er erwies sich noch als durchaus nicht einheitlich, da dieses Bariumsalz, das wir in Händen hatten, zum Teil in Petroläther löslich war, ein großer Teil erwies sich als unlöslich in Petroläther. Wir gingen nun so vor, daß wir das benzollösliche Barytsalz im

Soxhletapparat ca. 2 Tage extrahierten, bis der Petroläther nicht mehr anfärbte. Das in der Hülse des Apparates, also im Petroläther unlösliche Barytsalz, soll in einer anderen Arbeit beschrieben werden; wir wuschen es mit Alkohol und Äther, verrieben es zu einem Pulver und fanden die Orcinreaktion negativ. Von diesem in Benzol löslichen, in Petroläther unlöslichen Barytsalz wurde eine Ausbeute von ca. 10 g erhalten; es zeigte bei 185° Bräunung und bei 204° Zersetzung.

Zuerst wurde das sowohl in Benzol als auch in Petroläther lösliche Barytsalz untersucht. Die Petrolätherlösung wurde im Vakuum eingeengt, krystallisierte aber nicht aus und wurde daher mit absolutem Alkohol gefällt, mit demselben nachgewaschen, hierauf mit Äther behandelt und zu einem Pulver verrieben. Gelblichweißes Pulver; Ausbeute ca. 6 g. Wir schritten nun zur weiteren Reinigung. Es wurde im reinsten, durch Ausfrieren gewonnenen heißen Benzol gelöst, die Lösung im Vakuum auf ein Drittel ihres Volumens eingeengt und mit absolutem Alkohol ausgefällt. Chloroform, Ligroin und Solventnaphta erwiesen sich als ungeeignete Lösungsmittel. Dieses lichtgelb gefärbte Barytsalz schmilzt bei 228°, nach vorhergehender Bräunung bei 220°. Es war krystallinisch. Diese Verbindung beschreibe ich als hirnsaures Barium.

Aus der Mutterlauge des in heißem Benzol gelösten und mit absolutem Alkohol gefällten Baryumsalzes bekamen wir nach 3 Tagen weiße krystallinische Absätze, die abgenutscht, getrocknet und in heißem absoluten Alkohol gelöst wurden. In der Kälte krystallisierte ein weißer Körper in Ausbeute von ca. 1 g aus; der weiße Körper war krystallinisch und zeigte den Schmelzpunkt bei 194°. Orcinreaktion negativ.

Die Analyse des hirnsauren Baryums.

Nach vorhergehender qualitativer Untersuchung, bei welcher Baryum, Phosphor, Schwefel, Stickstoff nachgewiesen wurden, erfolgte die quantitative Analyse dieses Salzes; es wurde zweimal mit konzentrierter Salpetersäure (ca. $1^1/_2$ Tage) mit dem Mikrobrenner abgeraucht, hierauf einmal noch mit konzentrierter Salzsäure; der von organischen Bestandteilen freie, weiße Rückstand wurde in sehr verdünnter Salzsäure aufgenommen. Ungelöst blieb Bariumsulfat. Daraus wurde die Schwefelsäure und ein Teil des

Bariums berechnet. Im Filtrate wurde das übrige Barium als Bariumsulfat bestimmt. Das schwefelsaure Filtrat davon wurde zur Entfernung der Schwefelsäure mit Bariumchlorid versetzt und in diesem Filtrate wurde die Phosphorsäure nach B. Schmitz als Magnesiumpyrophosphat bestimmt.

Alle Elementaranalysen wurden auf mikrochemischem Wege durchgeführt.

I.	6,450 mg	Substanz	13,195 mg	CO_2	− 5,392 mg	H_2O	
II.	5,715 „	„	11,712 „	„	− 4,750 „	„	
III.	8,355 „	„	17,068 „	„	− 7,028 „	„	
I.	10,865 „	„	0,180 ccm	N (20°, 752 mm)			
II.	16,550 „	„	0,277 „	„ (19°, 754 mm)			
III.	19,710 „	„	0,321 „	„ (19°, 754 mm)			
I.	328,400 „	„	37,810 mg	$BaSO_4$	+ 39,875 mg	$BaSO_4$	
II.	144,840 „	„	15,985 „	„	+ 18,230 „	„	
III.	210,450 „	„	24,673 „	„	+ 25,895 „	„	
I.	328,400 „	„	17,915 „	$Mg_2P_2O_7$			
II.	144,840 „	„	8,836 „	„			
III.	210,450 „	„	12,612 „	„			

	Gefunden:			Mittelwert:
C	55,81%	55,92%	55,73%	55,82%
H	9,35 „	9,41 „	9,30 „	9,34 „
N	1,91 „	1,94 „	1,88 „	1,91 „
S	1,58 „	1,56 „	1,61 „	1,58 „
P	1,52 „	1,70 „	1,67 „	1,63 „
Ba	13,91 „	13,90 „	14,05 „	13,95 „

Für: $C_{93}H_{187}N_3SPBa_2O_{18}$

berechnet: C 56,16, H 9,41, N 2,11, S 1,60, P 1,55, Ba 13,85

gefunden: C 55,92, H 9,41, N 1,94, S 1,61, P 1,52, Ba 13,90

Die Relation Schwefel: Phosphor: Stickstoff: Barium = 1 : 1 : 3 : 2.

Da uns der Gehalt von O_{18} sehr auffällig erschien, vermuteten wir, daß die Substanz noch ein anderes Element enthielt. Doch ergab die qualitative Prüfung des Salzes keine anderen Elemente, als die von uns schon nachgewiesenen und quantitativ bestimmten.

Weiter war es für uns von Interesse, aus dem Barytsalze die freie Säure rein darzustellen. Zu diesem Behufe wurde das Bariumsalz mit 4 proz. Salzsäure in der Kälte zentrifugiert, so lange als noch Baryumchlorid in der überstehenden klaren Flüssigkeit des Zentrifugengläschens nachzuweisen war. Dann wurde der am Boden des Glases sich absetzende flockige Niederschlag bis zum Verschwinden der Chlorreaktion öfter mit destilliertem Wasser

nachgewaschen. Das Auswaschen geschieht auch durch Zentrifugieren, da die Abscheidung des Niederschlages von der Waschflüssigkeit auf diese Weise sehr deutlich sichtbar und durch Dekantieren eine Trennung möglich war. Aus 8 g des verwendeten Barytsalzes erhielten wir ca. 5 g freie Säure in Form eines schwammigen, wasserhaltigen Niederschlages. Mittels reinsten Benzols konnten wir die freie Säure in Lösung bringen, mußten sie aber nach dem Lösen wieder fällen, denn sie krystallisierte aus Benzol weder im Vakuum noch an der Luft aus. Wir versuchten die Benzollösung mit Alkohol, Methylalkohol, Chloroform zu fällen, aber erst mit Aceton ging die Fällung quantitativ. Diese freie Hirnsäure wurde zweimal aus Chloroform umkrystallisiert und dann über Schwefelsäure und Phosphorpentaoxyd getrocknet. Wir erhielten an 2 g rein weißer krystallinischer Absätze, die sich bei 150° bräunten und den Schmelzpunkt bei 153° hatten. Wir schritten nun zur Analyse der freien

Hirnsäure

und gingen auf dieselbe Weise wie bei der Analyse des Barytsalzes vor, nur daß wir die Soda-Salpeterschmelze für die Bestimmung von S und P anwendeten. Eine Kontrollbestimmung des Schwefels und Phosphors machten wir nach Carius.

I. 8,280 mg Substanz 19,516 mg CO_2 8,243 mg H_2O
II. 6,125 „ „ 14,455 „ „ 5,995 „ „

I. 7,770 „ „ 0,164 ccm N (17°, 735 mm)
II. 11,525 „ „ 0,247 „ „ (16°, 736 mm)

I. 197,280 „ „ 25,853 „ $BaSO_4$ 13,095 mg $Mg_2P_2O_7$
II. 280,500 „ „ 39,002 „ „ 18,318 „ „

Cariusbestimmung: 224,510 mg Substanz 30,563 mg $BaSO_4$, 14,256 mg $Mg_2P_2O_7$.

	Gefunden:			Mittelwert:
C	64,28%	64,36%		64,32%
H	11,14 „	10,95 „		11,01 „
N	2,35 „	2,46 „		2,40 „
S	1,80 „	1,91 „	1,87%	1,86 „
P	1,85 „	1,82 „	1,77 „	1,81 „

Für: $C_{93}H_{191}N_3SPO_{18}$

berechnet: C 64,42, H 11,02, N 2,42, S 1,85, P 1,80;
gefunden: C 64,32, H 11,01, N 2,40, S 1,86, P 1,81.

Die Relation Schwefel, Phosphor, Stickstoff = 1 : 1 : 3.

Auch der aus den Mutterlaugen des Barytsalzes auskrystallisierende Körper wurde analysiert. Ausbeute ca. 1 g. Schmelzpunkt 194°, Orcinreaktion negativ, Bariumfrei, Schwefelfrei (Nitroprussidnatriumprobe) Phosphor- und Stickstoffhaltig. Dieser Körper zeigte die Relation N : P = 2 : 3.

Hydrolyse der Hirnsäure.

Ca. 3 g des Barytsalzes wurden 9 Stunden lang am Ölbade in einem Kölbchen mit Rückflußkühler mit 15 ccm 25 proz. Salzsäure hydrolysiert, die Temperatur wurde konstant zwischen 100—110° gehalten. Das Hydrolysenprodukt wurde in Äther aufgenommen, mehrmals geschüttelt und die wässerige Schicht immer wieder abgetrennt. Es blieb auch ein Teil ungelöst in Form eines samtschwarzen Pulvers. Es dürfte sich um Huminsubstanzen handeln. Es wurden nun getrennt behandelt a) die ätherische, b) die wässerige Schicht.

a) Die ätherische Schicht.

Der größte Teil des Äthers wurde abdestilliert; der Rückstand wurde in heißem Methylalkohol gelöst, ein minimaler Teil blieb ungelöst. Die bräunlich gefärbte, methylalkoholische Lösung wurde mit methylalkoholischer Bleiacetatlösung, die ammoniakalisch gemacht wurde, in der Siedehitze versetzt. Es fiel ein lichtgelb gefärbtes Bleisalz in dichten Massen aus, das nach dem Abkühlen abgenutscht wurde. Dieses Bleisalz wurde zweimal aus heißem Benzol umkrystallisiert. Es zeigte den Zersetzungspunkt 209—212°.

Analyse des Bleisalzes.

Es wurde im Mikroporzellantiegel mit konzentrierter Schwefelsäure langsam mittels eines Mikrobrenners abgeraucht, hierauf nochmals mit konzentrierter Schwefelsäure abgeraucht, bis zur Konstanz geglüht und als $PbSO_4$ bestimmt.

22,955 mg	Substanz	6,770 mg	$PbSO_4$		
13,670 „	„	4,020 „	„		
5,430 „	„	11,990 „	CO_2	4,715 mg	H_2O
7,255 „	„	16,005 „	„	6,368 „	„

Gefunden:

C	60,23%	60,15%
H	9,72 „	9,82 „
Pb	20,85 „	20,99 „

Für $C_{50}H_{98}O_6Pb$
$(C_{25}H_{49}O_3)_2Pb$ = cerebronsaures Blei,
berechnet: C 59,94, H 9,79, Pb 20,68
gefunden: C 60,19, H 9,77, Pb 20,92

b) Die wässerige Schicht.

Sie wurde an der Wasserstrahlpumpe bis auf ein kleines Volumen eingeengt, mit Wasser verdünnt und wieder eingeengt, ca. viermal, bis die Salzsäure größtenteils zum Verschwinden gebracht wurde. Wir filtrierten von den bräunlichen Schmieren ab, engten ein und filtrierten wieder. Dann wurde im Exsiccator über Kalk und Schwefelsäure getrocknet. Es krystallisierte Bariumchlorid aus, die Mutterlauge wurde im Vakuum eingeengt. Es fielen braune krystallinische Absätze aus, von denen sich ein Großteil in Alkohol löste. Die Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt. Es krystallisierte ein lichtgelb gefärbtes Platinsalz aus, das erst eine beginnende Bräunung bei ca. 245° zeigte. Aus den Mutterlaugen wurde versucht ein Goldsalz darzustellen; es kam aber nicht zur Krystallisation.

Analyse des Platinsalzes.

I. 25,150 mg Substanz 4,735 mg Pt
II. 22,312 „ „ 3,312 „ „
I. 5,835 „ „ Pt 1,955 mg CO_2 1,798 mg H_2O
II. 9,315 „ „ „ 3,148 „ „ 2,750 „ „
I. 3,820 „ „ „ 0,165 ccm N (18°, 737 mm)
II. 5,210 „ „ „ 0,238 „ „ (18°, 737 mm)

Gefunden:

C	9,14%	9,22%
H	3,45 „	3,30 „
N	5,20 „	5,18 „
Pt	36,71 „	36,58 „

Berechnet für: $C_4H_6N_2C_6PtO_7 = (NH_2CH_2CH_2OH)_2 \cdot 2\,HCl \cdot PtCl_4$ = Platinsalz des Aminoäthylalkohols.

C 9,5%, H 3,2%, N 5,24%, Pt 36,8%.

Aus dem Platinsalze stellten wir noch das Pikrolonat des Aminoäthylalkohols durch Einleiten von Schwefelwasserstoff, Filtration — zur Trennung von Platinsulfid — und Versetzen mit alkoholischer Pikrolonsäure dar. Schmelzpunkt des gelb krystallisierenden Pikrolonats 225°[1]).

[1]) Knorr, B. **30**, 913. 1897.

Hydrolyse mit Ätzbaryt.

Ca. 1 g des hirnsauren Bariums wurde 5 Stunden auf dem Wasserbade mit reinster Bariumhydroxydlösung in einem Kölbchen gekocht, die Bariumsalze wurden abfiltrinnert, mit verdüter Salzsäure versetzt und mit Äther mehrere Male ausgeschüttelt. Der Äther wurde an der Luft abgedunstet; es krystallisierte die freie Fettsäure. In die wässerige Schicht von der Hydrolyse wurde so lange Kohlensäure eingeleitet, bis kein Bariumcarbonat ausfiel, vom Bariumcarbonat abfiltriert und mit Alkohol versetzt, um etwa vorhandenes glycerinphosphorsaures Barium zu fällen, das in Alkohol unlöslich ist. Es fiel kein Niederschlag aus, ein Zeichen dafür, daß Glycerinphosphorsäure nicht anwesend war.

Die aus dem Äther ausfallende Fettsäure wurde zweimal aus heißem Aceton, worin sie vollkommen löslich, umkrystallisiert. Schmelzpunkt 99—100°.

Analyse der Fettsäure:

I. 6,748 mg Substanz 18,620 mg CO_2 7,510 mg H_2O
II. 5,210 „ „ 14,388 „ „ 5,820 „ „

Gefunden:

C	75,25%	75,32%
H	12,45 „	12,50 „

Für $C_{25}H_{50}O_3$ = Cerebronsäure.
berechnet: C 75,37%, H 12,56%;
gefunden: C 75,28 „ H 12,24 „

Der Schmelzpunkt stimmt mit der von Thierfelder[1]) gefundenen Cerebronsäure überein. Ebenso sind die Analysenresultate des Bleisalzes von der sauren Hydrolyse und der freien Säure bei der Barythydrolyse identisch.

Es ist hier ein neues Verfahren ausgearbeitet worden, um den phosphorhaltigen Anteil der „weißen Materie" des Gehirnes in seine Bestandteile zu scheiden. Dabei wurde gefunden, daß dieser Anteil nicht nur Phosphor, sondern auch Schwefel enthält. Aus dem Gemenge der Barytsalze dieser phosphor-schwefelhaltigen Körper, welche Säuren sind, wurde vorerst ein benzollöslicher und ein benzolunlöslicher Anteil gewonnen; aus dem benzollöslichen Anteile wurde durch Scheidung mittels Petroläther ein phosphor-schwefelhaltiger Körper gewonnen, der Phosphor : Schwefel : Stickstoff : Barium in

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. **43**, 266. 1904.

der Relation 1 : 1 : 3 : 2 zeigte und sich als eine organische Phosphorschwefelsäure erwies. Aus diesem Bariumsalze wurde nun die freie Säure dargestellt, die sich als ein stabiler Körper erwies und nicht etwa die Phosphorsäure und Schwefelsäure abspaltet, wie es die freie Glycerinphosphorsäure macht. Diese Substanzen sind also nicht als Sulfatide, sondern als Phosphorsulfatide anzusehen. Bei der Hydrolyse des Barytsalzes wurden Aminoäthylalkohol und Cerebronsäure nachgewiesen.

Die Aufarbeitung der übrigen Anteile wird in späteren Arbeiten behandelt werden.

Über Lipoide.

XIX. Mitteilung.

Von

Sigmund Fränkel.

(Aus dem Laboratorium der Ludwig Spiegler-Stiftung in Wien.)

Über ein Lecithin aus Menschenhirn.

Von

Sigmund Fränkel und **Artur Käsz.**

(Eingegangen am 19. Juli 1921.)

Im Ochsengehirn wurde bereits von Thudichum[1]) eine Substanz gefunden, die in all ihren Eigenschaften und analytischen Resultaten mit dem Lecithin von Strecker[2]) aus Eidotter übereinstimmte.

Die Analyse des Präparates, das er als Cadmiumverbindung erhielt, entsprach der Formel $C_{43}H_{84}NPO_8 \cdot CdCl_2$, während die Platinverbindung auf die Formel $(C_{42}H_{82}NPO_8)_2 \cdot 2\,HCl \cdot PtCl_4$ stimmte. Er führt auch an, daß Lecithin mit Platinchlorid allein, ohne Salzsäure, eine Verbindung bildet, die er indes nicht näher beschreibt. Vor Thudichum hat bereits Diakonow[3]) ein Lecithin aus Menschenhirn dargestellt, indem er zerriebenes Gehirn zuerst mit Äther, dann mit absolutem Alkohol bei 40° extrahierte und die Lösung auf 0° abkühlte, wobei sich Lecithin und Cerebrin abschied. Das Lecithin wurde mit Äther ausgezogen, nach dem Abdunsten des Äthers in absolutem Alkohol gelöst und die Lösung auf −10° abgekühlt. Dabei schied sich „Distearyllecithin" aus, während „Dioleyllecithin" in Lösung blieb. Er behauptet also einerseits ein gesättigtes, andererseits ein Lecithin mit 2 ungesättigten Säuren erhalten zu haben, während alle von uns und anderen Forschern seitdem genau untersuchten Lecithine sich als ungesättigte Verbindungen mit je einer gesättigten und einer ungesättigten

[1]) Thudichum, Gehirnchemie. Tübingen 1901, S. 116.

[2]) Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. München **2**, 269. 1869.

[3]) Zentralbl. f. med. Wissensch. 1868.

Säure erwiesen haben. Besonders Levene hat dies in seinen neueren Arbeiten über Lecithin einwandfrei festgestellt[1]).

Thudichum vermutet nach der Darstellungsweise, daß Diakonow überhaupt nicht Lecithin, sondern das von ihm beschriebene Paramyelin untersucht habe.

Ferner findet sich in der Literatur eine Angabe von Zuelzer[2]) über eine Platinverbindung eines Lecithins aus Hirn, das er aber in so geringer Menge erhielt, daß er nur eine Platinbestimmung ausführen konnte. Auch gibt er nicht an, aus welchen Hirnen (Mensch oder welche Tierart) sein „Lecithin" gewonnen war.

Ein Lecithin aus Schafhirn stellte Waldemar Koch[3]) dar, indem er die Alkoholätherlösung nach dem Entfernen des Cephalins mit Aceton fällte und aus Essigester umkrystallisierte. Seine Substanz ist ungesättigt, die Analysenresultate stimmen auf ein Monoaminomonophosphatid mit 3 Methylgruppen. Über die Fettsäuren dieses Lecithins gibt er nichts Näheres an.

Während Waldemar Koch und andere Forscher das Lecithin durch fraktioniertes Ausfällen als solches abzuscheiden sich bemühten, ein Verfahren, das völlig unzulänglich ist und zu keinen reinen Präparaten führen kann, ging Kurt Linnert[4]) zur Darstellung eines Lecithins aus Menschenhirn nach den von Thudichum beschriebenen Verfahren vor, da sich die Lipoide besser über ihre Metallverbindungen reinigen lassen. Er erhielt aber eine Verbindung, der er die Formel $C_{80}H_{167}N_3P_2O_{12} \cdot 3\,CdCl_2$ zuschreibt. Der Gang war folgender:

In dem petrolätherischen Extrakt, der vorher mit Aceton erschöpften Gehirne, wurde Cephalin mit absolutem Alkohol gefällt, die Lösung eingeengt und mit alkoholischer, schwach ammoniakalischer Bleizuckerlösung versetzt. Der Niederschlag wurde filtriert und aus dem Filtrat Ammoniak im Vakuum abdestilliert. Zur Entfernung des überschüssigen Bleis wurde mit Salzsäure bis zur schwach kongosauren Reaktion versetzt. Das Filtrat wurde dann mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung gefällt und der Niederschlag durch Umfällen der Benzollösung mit Alkohol gereinigt. Die Analyse ergab die Relation $N : P = 3 : 2$. Linnert machte auch eine Methyl-am-Stickstoffbestimmung, welche $N : CH_3 = 1 : 1$ ergab, während das Verhältnis für Lecithin 1 : 3 sein müßte. Er kam daher zu dem Schlusse, daß die Substanz, die er Sahidin nannte, kein Lecithin sei, sondern ein Triaminodiphosphatid, das neben Cholin noch mindestens eine zweite Base enthalte.

In seinen umfassenden Arbeiten über Cephalin und Lecithin hat nun Levene gezeigt, daß diese beiden Lipoide äußerst schwierig rein dargestellt werden können. Die Löslichkeit des Lecithins in Cephalin und umgekehrt, des Cephalins in Lecithin ist so groß, daß die bisher gebräuchlichen Methoden der fraktionierten Extraktion nicht genügen, sie voneinander zu trennen.

---

[1]) Journ. of biol. chem. **33**, 111. 1917.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**, 255. 1899.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 134. 1902.
[4]) Diese Zeitschr. **24**, 268. 1910.

Außerdem sind beide sehr leicht zersetzlich, was eine gründliche Reinigung natürlich sehr erschwert. So wies Levene[1]) nach, daß das Cuorin von Erlandsen[2]) ein durch Lecithin (oder auch andere Lipoide), sowie durch dessen Spaltprodukte verunreinigtes Cephalin ist, eine Angabe, die von MacLean[3]) bestätigt wurde.

Da nun Linnerts Sahidin die Relation N : P = 3 : 2 ergeben hatte, untersuchten wir das Sahidin, ob es sich nicht nach weiterer Reinigung als Lecithin erweisen würde. Wir gingen zur Darstellung der Cadmiumverbindung mit einigen Abänderungen wie Linnert vor, reinigten zuerst, da der Körper, wie schon Linnert anführt, sehr leicht Chlorcadmium abdissoziiert, durch Umkrystallisieren aus chlorcadmiumhaltigen Alkohol. Zur weiteren Reinigung verwendeten wir, anstatt Benzol Toluol, das sich für diesen Zweck als besser erwies. Nach mehrmaligen Umfällen der Toluollösung wurde schließlich noch einmal fraktioniert aus Alkohol umkrystallisiert, wobei nur die am schwersten löslichen, fast reinweißen Anteile abgetrennt wurden. So gelangten wir schließlich zu einem Produkte, welches genau der Relation N : P = 1 : 1 entspricht.

Auffällig war, daß wir bei der Analyse der Substanz vor dem Umfällen der Toluollösung Werte bekamen, die gut mit den von Linnert angegebenen übereinstimmten. Nur Cadmium und Chlor gaben größere Differenzen. Der Prozentgehalt der das Lecithin verunreinigenden Substanzen scheint also ziemlich konstant zu sein. Es wäre möglich, daß diese mit dem Lecithinchlorcadmium Mischkrystalle oder additive Verbindungen bilden.

Außerdem stellten wir eine Verbindung mit Platinchlorid dar, die wir auch durch Umfällen der Toluollösung reinigten. Sie gab die Relation N : P : Pt = 2 : 2 : 1.

Diese Reinigung ist natürlich mit starken Verlusten verbunden. Wir reinigten daher nur so viel als wir zur Analyse bedurften und führten die Hydrolyse an einem aus chlorcadmiumhaltigen Alkohol umkrystallisierten Produkte durch. Wir fanden so außer den Spaltungsprodukten des Lecithins geringe Mengen anderer Substanzen, von denen aber nur Aminoäthylalkohol mit einiger Sicherheit festgestellt werden konnte. Da nun der Amino-

[1]) Journ. of biol. chem. **39**, 93. 1919.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 71. 1907.
[3]) Biochem. Journ. **14**, 615. 1920.

äthylalkohol die Base des Cephalins ist, war das Sahidin von Linnert ein durch Cephalin und dessen Bausteine, sowie auch eventuell durch die eigenen Spaltprodukte verunreinigtes Lecithin. Es ist sehr auffällig, daß Falks Cephalin, Erlandsens Cuorin, Linnerts Sahidin, so konstante Relationen zwischen Stickstoff und Phosphor zeigen, so daß es wahrscheinlich erscheint, daß ein stickstoffhaltiger Bestandteil sich in einem konstanten Verhältnis salzartig mit Lecithin oder Cephalin verbindet.

Die Hydrolysenprodukte, die wir in einer der angewandten Substanz entsprechenden Menge erhielten, waren Glycerinphosphorsäure, Cholin, Stearinsäure und eine ungesättigte Säure C_{18}, welche Ölsäure sein dürfte. Ein strikter Nachweis durch Ortsbestimmung der Doppelbindung mittels Ozon konnte mangels genügender Menge an Substanz nicht durchgeführt werden. Levene fand im Lecithin aus Eidotter[1]) außer Stearinsäure und Ölsäure auch Palmitinsäure. Wir konnten letztere in unserem Präparate nicht feststellen welches nur aus dem in Alkohol schwer löslichen Teil des Lecithins bestand.

Die Addition der Spaltlinge führt nach Abzug von 3 Mol. Wasser zur Formel $C_{44}H_{88}NPO_9$, welche mit der Elementaranalyse des Cadmiumsalzes übereinstimmt. Dabei wird angenommen, daß beim Eintritte der Stearinsäure und der Ölsäure in die Glycerinphosphorsäure je 1 Mol. Wasser austritt und 1 Mol. bei der Veresterung des Cholins mit dem gesamten Komplex:

$$\begin{array}{l} C_{18}H_{36}O_2 \\ C_{18}H_{34}O_2 \\ C_5H_{15}O_2N \\ C_3H_9O_6P \\ \hline C_{44}H_{94}O_{12}NP - 3\,H_2O = C_{44}H_{88}O_9NP. \end{array}$$

Das von uns beschriebene Lecithin aus Menschenhirn ist demnach ein Stearyl-Oleyl-Lecithin.

Darstellung des Lecithins.

25 Gehirne wurden in dem, in einer früheren Mitteilung[2]) beschriebenen Vakuumapparat von Fränkel getrocknet (7300 g Trockensubstanz), die harte Masse zerkleinert und mit 7 kg Benzin (Siedepunkt 42—75°) extrahiert, bis dieses farblos lief und

[1]) Journ. of biol. chem. **46**, 191. 1921.

[2]) Diese Zeitschr. **74**, 170. 1916.

keinen Rückstand hinterließ. Der Extrakt wurde im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz eingeengt und in das vierfache Volumen Alkohol gegossen. Die klare Lösung wurde abgehebert und das gefällte Cephalin so lange mit immer erneutem Alkohol angerieben, bis die Masse fest war. Diese wurde in einem halben Liter Benzin wieder gelöst, mit Alkohol gefällt und obiger Vorgang wiederholt. Die alkoholischen Lösungen wurden vereinigt, im Vakuum auf 1,5 l eingeengt und auf 24 Stunden in eine Kältemischung gestellt. Nachdem die ausgeschiedene matière blanche abgesaugt worden war, wurde das Filtrat weiter eingeengt und neuerlich in eine Kältemischung gestellt. Nach 24 Stunden wurde wieder abgesaugt und im Filtrat mit alkoholischer, schwach ammoniakalischer Bleizuckerlösung gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, das überschüssige Blei mit Schwefelsäure gefällt und zur Entfernung des letzteren Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaktion auf Kongo zugesetzt. Die schwach basisch reagierende Flüssigkeit wurde hierauf im Vakuum auf 200 ccm eingeengt und mit Aceton versetzt. Die klare Lösung wurde von dem gebildeten Niederschlag abdekantiert und dieser unter fortwährendem Erneuern des Acetons durchgeknetet, bis er fest wurde. Die rötlichgelbe teigige Masse wurde nun mit eisgekühltem Methylalkohol so lange angerieben, bis ein weißer krystallinischer Niederschlag blieb, der sich nicht mehr löste. Dieser wurde abzentrifugiert, mehrmals mit kaltem Methylalkohol gewaschen, die Lösung im Vakuum eingeengt, mit Aceton gefällt und der Niederschlag wie oben behandelt.

Dieser Prozeß wurde zweimal wiederholt. Es löste sich dann alles ohne Rückstand in Methylalkohol. Es wurde nun in Alkohol gelöst. Ein Teil der Lösung (A) wurde zur Darstellung der Platinverbindung aufgehoben, der andere (B) wurde mit alkoholischer 10 proz. Chlorcadmiumlösung versetzt. Es fällt ein hellgelber, krystallinischer Niederschlag, der nach mehrstündigem Stehen gut abgesaugt werden kann. Er wurde mehrmals mit Alkohol, dann einmal mit Äther gewaschen. Der Körper ist in Wasser, Äther und kaltem Alkohol unlöslich, in heißem Alkohol schwer löslich. Er wurde aus heißem chlorcadmiumhaltigen Alkohol umkrystallisiert. Wir erhielten so ein hellgelbes, krystallinisches Pulver, das einen sehr variablen Schmelzpunkt zeigte (170—230°). Mit diesem Körper wurde die Hydrolyse durchgeführt. Außerdem wurde eine

Bestimmung der freien Aminogruppen nach van Slyke gemacht:

0,157 g Substanz gaben 1,00 ccm N bei 750 mm und 14° C entsprechend 0,374% Aminostickstoff.

0,249 g Substanz gaben 1,80 ccm N bei 750 mm und 14° C entsprechend 0,424% Aminostickstoff.

Diese Werte waren weiter ein Beweis dafür, daß der Träger der freien Aminogruppe, der Aminoäthylalkohol, nur als Verunreinigung vorhanden war.

Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz in Toluol gelöst, das Ungelöste abzentrifugiert, und die Lösung mit Alkohol gefällt. Dies wurde so lange wiederholt, bis sich der Körper ohne Rückstand und ohne Färbung des Lösungsmittels in Toluol löste. Dann wurde noch einmal aus heißem Alkohol umkrystallisiert und nur die ersten ausfallenden Anteile abgesaugt. Das fast reinweiße Pulver schmilzt unter Bräunung ziemlich scharf bei 184°.

Der Körper ist ungesättigt, wie aus der Bestimmung der

Jodzahl

hervorgeht.

0,2288 g Substanz verbrauchten von einer Jodlösung, von der 25 ccm genau 45,3 ccm $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung = 0,5749 g Jod entsprechen, 4,6 ccm = 0,1058 g Jod.

Jodzahl: 46,24.

0,4319 g Substanz verbrauchten von derselben Lösung 8,1 ccm = 0,1863 g Jod.

Jodzahl: 43,14.

Die Substanz ist optisch aktiv.

Der Drehungswert wurde im Mikrorohre (l = 2 cm) nach der Methode von E. Fischer[1]) bestimmt:

9,890 mg Substanz in 1352,440 mg Toluol (d = 0,87) gelöst, drehen bei 13° C 0,04° rechts (Mittelwert der Ablesungen 0,03, 0,04, 0,04, 0,05, 0,04).

$$[\alpha]_D^{13} = +29{,}08° \text{ (C = 0,6362)}.$$

Analyse.

Stickstoffbestimmung nach Dumas-Pregl:

15,697 mg Substanz gaben 0,228 ccm N (743 mm, 18°) entsprech. 1,66% N
12,155 „ „ „ 0,166 „ „ (743 „ 18°) „ 1,57% N

[1]) Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. V (1), S. 572 und B **44**, 129. 1911.

Kohlenstoff- und Wasserstoff-Bestimmung:

6,331 mg Substanz gaben 12,340 mg CO_2 entsprech. 53,16% C
4,877 „ H_2O „ 8,62 „ H
6,743 „ „ „ 13,172 „ CO_2 „ 53,28 „ C
5,327 „ H_2O „ 8,84 „ H

Bestimmung von P, Cl, Cd im Cariusrohr:

0,1647 g Substanz gaben 0,0498 g AgCl entsprechend 7,48% Cl
0,0351 g $CdSO_4$ „ 11,49 „ Cd
0,0188 g $Mg_2P_2O_7$ „ 3,18 „ P

0,2145 g Substanz gaben 0,0633 g AgCl entsprechend 7,30% Cl
0,0466 g $CdSO_4$ „ 11,71 „ Cd
0,0249 g $Mg_2P_2O_7$ „ 3,23 „ P

Relation N : P = 1 : 1.

	Gefunden:		Berechnet für $C_{44}H_{88}NPO_9 \cdot CdCl_2$:
C	53,16%	53,28%	53,39%
H	8,62 „	8,84 „	8,97 „
N	1,66 „	1,57 „	1,42 „
P	3,18 „	3,23 „	3,14 „
Cd	11,49 „	11,71 „	11,37 „
Cl	7,48 „	7,30 „	7,17 „

Die Platinverbindung.

Der Teil A der alkoholischen Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, solange ein Niederschlag fiel. Nach dreistündigem Absitzen wurde abgesaugt und mit Alkohol gewaschen. Es wurde durch Fällen der ätherischen Lösung mit absolutem Alkohol, dann einmal, wie bei der Cadmiumverbindung mit Toluol gereinigt. Eine weitere Reinigung konnten wir mangels genügender Mengen Substanz nicht durchführen. Daher wurden die Werte für Stickstoff und Phosphor etwas zu hoch gefunden, geben aber doch noch gut die Relation 1 : 1. Der Körper ist ein rotbraunes krystallinisches Pulver, in Wasser, kaltem und heißem Alkohol unlöslich, leicht löslich in Äther, Benzol und Toluol. Bräunt sich bei 125° und schmilzt unter Zersetzung bei 136°.

Optische Aktivität:

36,540 mg Substanz in 1604,080 mg Toluol (d = 0,87) gelöst, drehen im Mikrorohr (l = 2 cm) 0,11° nach rechts (13° C).

$$[\alpha]_D^{13} = + 27{,}8° \text{ (c = 1,9818)}.$$

Analyse:

3,961 mg	Substanz	gaben	0,056 ccmN	(745 mm, 17°)	entsprech.	1,63%	N
10,850 „	„	„	0,162 „	„ (746 „ 17°)	„	1,72 „	N
4,274 mg	Substanz	gaben	8,509 mg	CO_2	entsprechend	54,30%	C
			3,393 „	H_2O	„	8,88 „	H
4,966 „	„	„	9,845 „	CO_2	„	54,07 „	C
			3,858 „	H_2O	„	8,70 „	H
0,1637 g	„	„	0,0201 g	$Mg_2P_2O_7$	„	3,42 „	P
			0,0489 „	AgCl	„	7,39 „	Cl
			0,0169 „	Pt	„	10,32 „	Pt
0,1524 „	„	„	0,0185 „	$Mg_2P_2O_7$	„	3,38 „	P
			0,0451 „	AgCl	„	7,32 „	Cl
			0,0154 „	Pt	„	10,11 „	Pt

Relation: N : P : Pt = 2 : 2 : 1.

	Gefunden:		Berechnet für $(C_{44}H_{88}NPO_9)_2PtCl_4$:
C	54,30%	54,07%	54,20%
H	8,88 „	8,70 „	9,10 „
N	1,63 „	1,72 „	1,44 „
P	3,42 „	3,38 „	3,19 „
Cl	7,39 „	7,32 „	7,28 „
Pt	10,32 „	10,11 „	10,02 „

Sowohl die Chlorcadmiumverbindung als auch die Chlorplatinverbindung sind sehr leicht zersetzlich, so daß sie einige Tage nach dem Umfällen beim Lösen in Toluol einen Rückstand hinterlassen. Es empfiehlt sich daher die Analyse gleich nach dem Reinigen zu machen.

Hydrolyse.

20 g Chlorcadmiumverbindung wurden mit 10 proz. wässeriger Salzsäure 6 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die ausgeschiedenen Fettsäuren wurden abfiltriert, mit Wasser gut gewaschen und in Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wurde zweimal mit Wasser durchgewaschen, die Waschflüssigkeit mit dem Filtrat vereinigt. Die Lösung der Fettsäuren wurde nun gegen Barytwasser geschüttelt. Der Niederschlag der gesättigten Seifen wurde durch Zentrifugieren von der Lösung der ungesättigten Seifen getrennt und mit Salzsäure daraus die Fettsäure in Freiheit gesetzt. Diese wurde in Äther aufgenommen, nach dem Abdunsten des Äthers in warmen Alkohol gelöst und mit einer warmen alkoholischen Lithiumacetatlösung versetzt. Es bildet

sich ein weißer krystallinischer Niederschlag, der abgesaugt und aus heißem Alkohol umkrystallisiert wird. Schmelzpunkt 214°.

0,1519 g Substanz gaben 0,0288 g $LiSO_4$ entsprechend 2,39% Li
2,557 mg „ „ 1,237 mg $LiSO_4$ „ 2,38 „ Li
6,828 „ „ „ 7,700 „ CO_2 „ 74,28 „ C
3,142 „ H_2O „ 12,43 „ H

	Gefunden:		Berechnet für stearinsaures Lithium:
C	74,28%		74,43%
H	12,43 „		12,16 „
Li	2,39 „	2,38%	2,38 „

Die aus dem Lithiumsalz erhaltene freie Säure schmilzt nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton bei 68°.

4,484 mg Substanz gaben 12,503 mg CO entsprechend 76,05% C
5,123 „ H_2O „ 12,78 „ H

	Gefunden:	Berechnet für $C_{18}H_{36}O_2$:
C	76,05%	75,97%
H	12,78 „	12,76 „

Die ätherische Lösung der ungesättigten Barytseifen wurde eingedunstet, die Fettsäure mit Salzsäure in Freiheit gesetzt, nach Lewkowitsch in Ammoniak gelöst und mit Baryumchlorid gefällt. Der hellgelbe flockige Niederschlag wurde abgesaugt und mit Wasser, dann mit Alkohol gewaschen. Zur Reinigung wurde er in Äther gelöst und mit Alkohol gefällt. Die Barytseife fällt immer hellgelb aus, färbt sich jedoch auch bei raschem Absaugen am Filter sofort braun. Sie sintert bei 110° ohne vorher zu schmelzen.

6,348 mg Substanz gaben 2,138 mg $BaSO_4$ entsprechend 19,54% Ba
9,341 „ „ „ 3,087 „ $BaSO_4$ „ 19,45 „ Ba
7,138 „ „ „ 16,103 „ CO_2 „ 61,52 „ C
5,916 „ H_2O „ 9,27 „ H
5,193 „ „ „ 11,705 „ CO_2 „ 61,47 „ C
4,362 „ H_2O „ 9,40 „ H

	Gefunden:		Berechnet für $(C_{18}H_{33}O_2)_2Ba$:
C	61,52%	61,47%	61,71%
H	9,27 „	9,40 „	9,51 „
Ba	19,54 „	19,45 „	19,62 „

Das Filtrat der Fettsäuren wurde mit Schwefelwasserstoff gesättigt, das ausgeschiedene Cadmiumsulfid abfiltriert, die Lösung in Vakuum eingeengt, in Alkohol aufgenommen und mit alkoholi-

scher Sublimatlösung im Überschuß gefällt. Der weiße krystallinische Niederschlag wurde im Alkohol suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom ausgeschiedenen Quecksilbersulfid wurde auf ein kleines Volumen im Vakuum eingeengt. Ein Teil dieser Lösung wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung versetzt, der gelbe Niederschlag abfiltriert, mit Alkohol gut gewaschen und in wenig Wasser gelöst. Die wässerige Lösung wurde im Vakuumexsiccator eingetrocknet, wobei sich die großen orangefarbigen Krystalle des Cholinplatinats zeigten, Schmelzpunkt 225°.

Zur weiteren Identifizierung des Cholins wurde der andere Teil der Lösung zur Trockene eingedunstet in Wasser gelöst und mit Goldchlorid gefällt. Die prachtvollen citronengelben Krystalle wurden abgesaugt und zeigten den Schmelzpunkt 246°.

Platinat.

13,653 mg	Substanz	gaben	0,551 ccm	N	(748 mm, 24°)	entsprech.	4,56%	
4,851 „	„	„	0,194 „	„	(750 „ 24°)	„	4,53 „	
6,133 „	„	„	1,947 mg	Pt	entsprechend	31,76%	Pt	
3,132 „	„	„	0,992 „	Pt	„	31,67 „	Pt	

	Gefunden:		Berechnet:
N	4,56%	4,53%	4,55%
Pt	31,76 „	31,67 „	31,68 „

Aurat.

6,932 mg	Substanz	gaben	3,082 mg	Au	entsprechend	44,46% Au
8,143 „	„	„	3,615 „	Au	„	44,40 „ Au

Berechnet: 44,50% Au

Das Filtrat der Sublimatfällung wurde, nach Entfernen des Quecksilbers mit Schwefelwasserstoff, im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz eingeengt, dieser Sirup mit Alkohol angerieben. Dabei bleibt ein schmieriger in Wasser leicht löslicher Rückstand, der mit Methylalkohol angerieben weiß und krystallinisch wird. Er ist phosphor- und stickstofffrei und verbrennt ohne Rückstand. Eine weitere Untersuchung konnte mangels genügender Menge nicht durchgeführt werden.

Die alkoholische Lösung wurde mit Platinchlorid gefällt, der hellgelbe Niederschlag filtriert, mit Alkohol gewaschen, in Wasser gelöst und mit Alkohol gefällt. Die Resultate der Platin- und Stickstoffbestimmung lassen mit einiger Sicherheit auf Amino-

äthylalkohol schließen, der durch verschiedene Beimengungen stark verunreinigt ist. Auch diese Substanz konnte infolge ihrer geringen Menge nicht weiter gereinigt werden.

2,145 mg Substanz gaben 0,103 ccm N (750 mm, 14°)
4,237 „ „ „ 1,473 mg CO_2
1,276 „ H_2O
1,535 „ Pt (bestimmt durch Rückwage des Schiffchens).

	Gefunden:	Berechnet:
C	9,48%	9,03%
H	3,37 „	3,03 „
N	5,64 „	5,27 „
Pt	36,23 „	36,69 „

Das Filtrat des Platinats wurde nach dem Entfernen des Platins mit Schwefelwasserstoff im Vakuum vollkommen eingedunstet, der Rückstand in Methylalkohol gelöst und mit methylalkoholischer Barytlösung versetzt. Der gallertige Niederschlag von glycerinphosphorsaurem Barium wurde durch sechsmaliges Umfällen der wässerigen Lösung in Alkohol gereinigt. Die Substanz war dann ganz weiß und ohne Rückstand in Wasser löslich.

8,343 mg Substanz gaben im Mikroporzellantiegel zur Konstanz geglüht
5,825 mg $Ba_2P_2O_7$ entsprechend 9,66% P
42,74 „ Ba
9,431 „ „ „ 6,625 „ $Ba_2P_2O_7$ „ 9,72 „ P
43,00 „ Ba

Berechnet für $C_3H_7O_6PBa + {}^1/_2 H_2O$:
9,81% P
43,41 „ Ba.

Außerdem wurde die

Optische Aktivität

des Körpers untersucht. Da der Körper nach rechts drehte, Linnert jedoch sein Glycerinphosphat aus Sahidin $[\alpha] = -15{,}5$ angibt und auch Willstätter und Lüdecke[1]) in Ovolecithin eine linksdrehende Glycerinphosphorsäure fanden, fällten wir den Körper noch zweimal um. Er gab jedoch auch dann Rechtsdrehung, und zwar:

25,130 mg Substanz in 1481,300 mg Wasser gelöst drehen bei 13° im Mikrorohre (l = 2 cm) 0,02° rechts.

$$[\alpha]_D^{13} = +2{,}69° \text{ (c = 3,7225).}$$

[1]) B. **37**, 3755. 1904.

Levene[1]) gibt für das glycerinphosphorsaure Barium aus Lecithin $[\alpha]_D = -0{,}74°$ an. Dasselbe Salz aus Kephalin dargestellt, zeigte zuerst Rechtsdrehung, die bei fortgesetzter Reinigung immer mehr abnahm und schließlich in Linksdrehung überging, und zwar: $[a]_D^{20} = -0{,}67°$. Diese Angaben konnten wir leider nicht überprüfen, da uns zu wenig Substanz zur Verfügung stand. Immerhin wäre es möglich, daß die Rechtsform bei dem Umfällen verlorengeht, oder auch von Verunreinigungen stammt, so daß bei fortgesetzter Reinigung schließlich Linksform resutiert.

[1]) Journ. of biol. chem. **40**, 1. 1919.

Über die Chemie der Normal- und der Gauchermilz.

Von

G. Aiello (Rom).

(Aus dem Laboratorium der Ludwig-Spiegler Stiftung in Wien)

(Eingegangen am 2. August 1921.)

Epstein (Wien) ist seit längerer Zeit mit Studien über die Splenomegalie Typ Gaucher von morphologischen und histochemischen Gesichtspunkten aus beschäftigt. Er teilt das Ergebnis seiner Arbeit an anderer Stelle ausführlich mit. Da zur endgültigen Feststellung der chemischen Beschaffenheit der für die Gaucher sche Krankheit eigenartigen intraprotoplasmatisch abgelagerten Substanz chemische Untersuchungen im größten Stile sich als notwendig erwiesen, übergab Epstein in Aceton eingelegtes Material Herrn Prof. Dr. Sigm. Fraenkel in Wien, welcher mir die Aufgabe zuwies, die weiteren Untersuchungen durchzuführen und die Frage womöglich aufzuklären.

Die Histogenese der Gaucherzellen hat trotz der Seltenheit der Gauchermilz eine Reihe von Forschern um so mehr beschäftigt, als die Erklärung der Zellumwandlung, welche hier zu sehen ist, bisher trotz zahlreicher Versuche auf diesem Gebiete ganz unbefriedigend ist. Insbesonders die chemische Erforschung der eigenartigen, im Protoplasma der Gaucherzellen eingelagerten Substanz, erschien sehr mangelhaft. Einzelne Forscher wie Risel[1]) faßten die Einlagerung als noch unbekannte Eiweißkörper auf, um fettartige Verbindungen (Lipoide) kann es sich nach seinen Färbungsversuchen mit Osmium und Sudan nicht handeln. Wahl und Richardson[2]) haben, von der Ansicht ausgehend, daß es sich um Lipoidspeicherung handeln könne, zur Erforschung der merkwürdigen Zelleinschlüsse, nicht nur auf mikrochemischem Wege, sondern auch chemisch-präparativ Untersuchungen angestellt. Sie haben eine Gauchermilz nach dem Extraktionsverfahren von S. Fraenkel und Erlandsen untersucht und kamen zu dem Schlusse, daß bei der Gauchermilz die Fette, welche Osmiumfärbung geben, im Vergleich zur normalen Milz vermindert sind. Cholesterin und Lecithin, in ihrem Falle besonders das Lecithin, erscheinen vermehrt, aber es könnte auch in anderen Fällen das Cholesterin stark vermehrt sein. Die Lipoidsubstanzen werden, bei Störung des Zellstoffwechsels der Fettsubstanzen in den retikulo-endothelialen Zellen gespeichert. Die Gaucherkrankheit gehört in die Gruppe des Xantelasmas, welches sich durch Speicherung von Fett in den Retikularzellen bzw. in den Fibroblasten charakterisiert. Dieser Auffassung, daß die Einschlüsse bei Gaucher Lipoid-

[1]) Risel, Zieglers Beiträge z. pathol. Anat. u. z. allg. Path. **46**. 1909.

[2]) Arch. of internal med. **17**. 1916.

substanzen sind, stehen die Untersuchungen von Epstein, welcher nach Extraktion des Gauchermilzgewebes nach dem Verfahren von S. Fraenkel keinerlei Änderungen im histologischen Bild der Gaucherzellen gesehen hat, gegenüber. Die Befunde von Wahl und Richardson ließen sich etwa nach der Richtung hin deuten, daß wohl eine Vermehrung von Lecithin oder Cholesterin oder anderen Lipoiden mit der Gaucherschen Erkrankung parallel laufen könne, ohne daß jedoch diese Substanzen zu der eigenartigen Substanz in Beziehung stünden. Epstein hat sowohl in Mikro-Ausstrichpräparaten als auch durch Extraktion des Gewebes schwache Cholesterin-Reakteon erhalten können. Das Vorkommen von Cholesterin ist aber bekanntlich so ubiquitär und die Quantität der extrahierten Lipoidsubstanzen steht in so geringem Verhältnisse zu der enormen Menge von Gauchersubstanz in der Milz, daß schon diese chemischen Untersuchungen gegen die Identität der eigenartigen Substanz mit Lipoiden spricht. Diese Befunde führten Epstein zur Annahme, daß es sich wohl kaum um Lipoidsubstanzen, sondern etwa um eine Abartung von Eiweiß handeln dürfte. Da die Gauchererkrankungen nun sehr selten und die Diagnose meist erst nach dem Tode oder nach Splenektomie gemacht werden könnte, sind nun keinerlei Stoffwechseluntersuchungen bei solchen Patienten vorgenommen worden, die ja vielleicht Fingerzeige geben könnten, wie diese supponierte Abartung vor sich geht. Trifft diese Annahme zu, daß es sich um eine Abartung handelt, so müßte sich in der Zusammensetzung der Eiweißkörper evtl. der Nucleinsäuren, eine Veränderung zeigen.

Da die Isolierung der Gauchereinschlüsse in der Milz technisch nicht möglich ist, die Gaucherzellen aber einen beträchtlichen Anteil der Gesamtmilz ausmachen, so müßten sich große Differenzen auch dann zeigen, wenn man nicht die isolierten Einschlüsse, sondern die ganze Milz chemisch-quantitativ auf ihren Gehalt an Aminosäuren untersucht und die gefundenen Zahlen mit den Zahlenwerten einer Normalmilz vergleicht.

Wir haben daher die Gauchermilz (Gewicht 1830 g) und eine normale Milz (Gewicht 190 g) in folgender gleicher Weise verarbeitet.

Zunächst wurden die Milzen auf einer Fleischmaschine feinst zerrieben, hierauf in Aceton zur Entwässerung für 2 Tage eingelegt, von der Aceton-Wasserlösung abfiltriert, die Masse in einen großen Soxhlet gebracht und mit Äther erschöpfend extrahiert; der Äther hierauf an der Luft abgedunstet, sodann mit Alkohol heiß extrahiert und das unlösliche Milzgewebe an der Luft getrocknet.

Der Rückstand wurde auf einer Seckmühle zu feinstem Pulver verrieben und im Thermostaten getrocknet.

Das Milzpulver der Gauchermilz war lichter in der Farbe als das der normalen Milz. Diese beiden Pulver wurden nun nach der Methode von van Slyke[1]) untersucht. Diese Methode gestattet es bekanntlich, mit kleinen Quantitäten von Eiweißkörpern ein Bild über die verschiedenen Gruppen von Aminosäuren und ihre Mengen zu geben, so daß gröbere Differenzen in der Zusammensetzung der Eiweißkörper durch die Methode von van Slyke aufgezeigt werden können.

[1]) Journ. of biol. chem. **10**, 10. 1911.

Wir haben nun je 3 g normaler und pathologischer Milz in der üblichen Weise genau nach der Vorschrift von van Slyke untersucht und folgendes gefunden:

Tabelle I.
Normale Milz.

Gesamt-N 12,83 %	Nichtkorrigierte Mittelwerte		Mittelwerte korrigiert für die Löslichkeit der Basen	
NH_3N	5,84		5,84	
Melanin-N	7,48		7,48	
Arginin-N	7,86		8,90	
Histidin-N	15,58	28,34	16,83	30,79
Cystin-N	—		—	
Lysin-N	4,90		5,06	
Amino N des Filtrates der Basen	41,62	57,44	40,80	55,06
Nicht-Amino N des Filtrates der Basen	15,82		14,26	
	99,10		99,17	

Tabelle II.
Gauchermilz.

Gesamt-N 9,79 %	Nicht korrigierte Mittelwerte		Mittelwerte korr. für die Löslichkeit der Basen		Unterschied zwischen Normal- u. Gauchermilz %		
NH_3-N	8,06		8,06		+2,22	+27,54	
Melanin-N	5,92		5,92		−1,46	−24,98	
Arginin-N	7,66		9,08		+0,18	+ 2,47	
Histidin-N	15,32	29,31	16,85	32,46	−0,26	+ 1,63	+26,73
Cystin-N	10,04		(0,04)		—	+ 0,04	
Lysin-N	6,33		6,53		+1,43	+22,59	
Amino-N des Filtrates der Basen	33,50	55,25	32,41		−7,90	−23,54	
Nicht-Amino N d. Filtr. der Basen	21,75		19,71		−5,93	+22,66	
	98,58		98,60				

Man sieht bei diesen Zahlen folgende große Differenzen. Der Gesamtstickstoff der normalen Milz ist weitaus höher als der Gesamtstickstoff der Gaucherschen Milz. Dies zeigt, daß in der Gauchermilz noch eine andere stickstoffreie Substanz enthalten ist und zwar in relativ größerer Menge, welche den Gesamtstickstoffwert drückt. Die Verteilung des Stickstoffes innerhalb des Eiweißkörpers zeigt ebenfalls sehr starke Differenzen. Der Ammoniakstickstoff, welcher dem Asparagin und Glutamin entspricht, ist wesentlich vermehrt, während der Melaninstickstoff, welcher der Hälfte des Tryptophans entspricht, wesentlich verringert ist.

Wir versuchten auch eine direkte Tryptophanbestimmung durchzuführen. Sowohl nach der Methode nach Fasal als auch nach der von Voisinet und Fürth waren wir nicht in der Lage, eine Farbenreaktion zu erhalten, die für Messungen verwendet werden konnte.

Sowohl der Arginin- als der Histidinstickstoff sind vermehrt. Die Monoaminosäuren wie Glykokoll, Alanin, Leucin, Tyrosin sind sehr wesentlich vermindert, während die Gruppe des Prolin und Oxyprolin wesentlich vermehrt ist.

Das Gesamtbild, das die vorliegende Untersuchung zeigt, weißt also nach zwei Seiten hin; daß die Milz bei der Gaucherschen Erkrankung einen stickstoffreien Körper in größerer Masse enthält als in der normalen, ferner daß die Eiweißkörper in der Gaucherschen Milz eine Verminderung der Monoaminosäure-monocarbonsäuren und des Tryptophans zeigen und daß sämtliche Diaminocarbonsäuren, also die Gruppe der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Basen vermehrt sind. Aber die größten Differenzen sind in der Gruppe der Monoaminosäuren, u. z. starke Verminderung, die größte Zunahme in der Prolin- und Oxyprolingruppe.

Unsere Resultate sind um so sicherer, als alles mit reichlicher Kontrolle durchgearbeitet worden ist und die angegebenen Zahlen Mittelwerte aus sehr wenig differierenden Analysen sind.

Wir haben nun die weiteren Untersuchungen nach folgenden zwei Richtungen vorgenommen. Vorerst wollten wir sehen, wie die Nucleinsäuren sich verhalten, ob hier irgendeine Veränderung eintritt. Über die Nucleinsäuren konnten wir in diesem Pulver ein Bild bekommen, indem wir erstens den Phosphorsäuregehalt bestimmten, zweitens inden bei der Hydrolyse abgespaltenen Purinbasen, die mit ammoniakalischer Silberlösung fällbar sind, den Stickstoffgehalt bestimmten. Wir fanden 1,01% Phosphor in der normalen Milz, 1,15% in der pathologischen Milz, also fast keine Differenz. Die Purinbasen wurden folgendermaßen bestimmt.

3 g der Substanz wurden mit 60 ccm 10 proz. Schwefelsäure 2 Stunden gekocht, hierauf auskühlen gelassen, filtriert, mit Ammoniak neutralisiert, mit ammoniakalischer Silberlösung im Überschusse gefällt. Der Niederschlag wurde zuerst mit ammoniakalischem Wasser und dann mit ammoniakfreiem Wasser gewaschen, dann wurde der Niederschlag in einen Kjeldahlkolben gebracht, Wasser und Magnesia zugesetzt und solange mit Wasser gekocht, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden war, hierauf wurde in dem Niederschlage die N-Bestimmung nach Kjeldahl durchgeführt.

Die normale Milz enthält nach diesen Bestimmungen 0,33% Purinstickstoff, die Gauchersche Milz 0,27% Purinstickstoff, also sehr kleine Differenzen. Rechnet man aber den Prozentgehalt nicht auf das Gewebe, sondern auf den Gesamtstickstoff, so erhält man für die normale Milz 2,56% und für die Gauchersche Milz 2,75% Purinstickstoff. Bei der Frage, worauf die Differenz im Gesamtstickstoff zwischen der Gaucherschen Milz und der normalen Milz beruht, war es natürlich naheliegend, an Kohlehydratgruppen zu denken, die, in der Milz in erhöhter Menge vorhanden, den Stickstoffgehalt derselben drücken könnten.

Wir hydrolysierten das Pulver aus normaler Milz und aus Gauchermilz und fanden dann bei normaler Milz eine Reduktion 3,22% Traubenzucker entsprechend, während die Gauchermilz eine Reduktion zeigte 4,91% Traubenzucker entsprechend. Also eine Zunahme von 52,8% Kohlenhydrat, wodurch ein großer Teil der Stickstoffdifferenz zwischen der Normalmilz und der Gauchermilz erklärt wird.

Methodik.

Normalmilz.

In 2 Glaskolben zu ungefähr 150 ccm, werden je 3 g Trockenmilzpulver gebracht. Man fügt zu jedem 60 ccm 20 proz. Salzsäure hinzu. Hydrolyse 24 Stunden lang (Rückflußkühlung). Alle 2—3 Stunden fügt man zu jedem Kolben einige Kubikzentimeter 20 proz. Salzsäure.

Das Produkt der Hydrolyse von je 3 g Substanz wird nach der Methode von van Slyke behandelt: es wird in je 2 tarierte Kolben zu 250 ccm gebracht. Man nimmt von jedem Kolben 2 Portionen von 20 ccm (für 2 Kjeldahlbestimmungen).

Je 20 ccm enthalten 0,24 g getrocknetes Milzpulver. Die Werte der Kjeldahlbestimmungen ergeben 22,2 und 21,8 (Mittel 22,0) ccm $^n/_{10}$ Natronlauge entsprechend 0,0308 g N. In 3 g Milzpulver sind 0,385 g N, in 100 g 12,83 g N.

Ammoniakstickstoff. Zur Neutralisierung von 200 ccm Flüssigkeit. die aus den tarierten Kolben von 250 ccm genommen wurden, die 2,4 g Milzpulver entsprechen. wurden 12,9 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht (in der Vorlage 30 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure).

In 2,4 g des Milzpulvers also 0,0180 N, in 3 g 0,0225 und in 100 g 0,750 (in der Tabelle sind alle die Werte berechnet als N = 100).

Melanin-N. Für die gleiche Menge Substanz wie für NH_3—N, wurden 16,6 ccm $^n/_{10}$-NaOH verbraucht.

In 2,4 g Milzpulver sind also 0,02324 Melanin-N. In 100 g 0,960 g.

Cystin-N. Für 0,16 g Milzpulver erhält man 0,0024 g $BaSO_4$ (nach Abzug des Wertes eines Blindversuches).

Jedes Milligramm $BaSO_4$ entspricht 0,06 mg Cystin N.

Für 100 g erhält man also Milligramm 0,09 Cystin N (zu vernachlässigen).

Arginin-N. Zu 0,60 g Milzpulver wurden 1,8 und 1,9 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht (Mittelwerte: 1,85 ccm entsprechend 0,005180 g N. In 100 g Milzpulver sind also 0,85 Arginin-N.

N der Basen. Für 0,60 g Milzpulver wurden 6,1 und 6,3 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht. (Mittelwert: 6,2 ccm) entsprechend 0,01756 g N. In 100 g Milzpulver sind also 2,80 g N.

Um den Wert des Total-N der Basen zu erhalten, muß man den Wert des Arginin hinzufügen. Man hat dann 8,05 ccm (Mittel), das heißt in 100 g Milzpulver 3,65 g Gesamtstickstoff der Basen.

Amino-N der Basen. Von 0,16 g Trockenpulver wurden 4,4 ccm N bei 744 mm Hg und 23° in Form von Gas erhalten (nach Abzug des Wertes eines Blindversuches). Diese entsprechen nach der Tabelle von van Slyke 0,024132 Amino-N, gleich 1,50 g Amino-N-Prozent Milzpulver.

Amino-N des Filtrates der Basen. Von 0,16 g Pulver wurden 15,6 ccm N in Form von Gas erhalten. Mittels der Tabelle berechnet sich der Wert zu 5,343 g Amino-N-Prozent.

Total-N des Filtrates der Basen. Für je 0,40 g Milzpulver wurden als Mittel von 3 Kjeldahlbestimmungen 21,10 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht, die 0,02954 g N entsprechen. In 100 g Milzpulver 7,37 g N.

Purinbasen. Für 3 g Trockenmilz wurden 7,1 ccm $^n/_{10}$-Natronlaugelösung verbraucht, die 0,0099 g N entsprechen. In 100 g Substanz 0,33 g N. Berechnet auf den Gesamt-Stickstoff gleich 100 erhält man 2,56%.

P (nach Neumann). Es wurden 9,1 ccm $^n/_2$-Natronlauge verbraucht.

Das ergibt den Wert von 5,0323 mg P, für 100 g Milzpulver 1,01 g P.

Zucker (nach Bertrand). Hydrolyse 3 Stunden mit 10proz. Salzsäure. — 0,6135 Trockenmilz verbrauchten 4,0 ccm Permanganat (Titer: 0,009857) gleich 3,22%.

Gauchermilz.

In 2 Glaskolben zu ungefähr 150 ccm werden je 3 g Trockenmilzpulver gebracht.

Man fügt zu jeden 60 ccm 20 prcz. Salzsäure hinzu. Hydrolyse 24 Stunden lang (Rückflußkühlung).

Alle 2—3 Stunden fügt man zu jedem Kolben einige Kubikzentimeter 20 proz. Salzsäure.

Das Produkt der Hydrolyse von je 3 g Substanz wird nach der Methode van Slyke behandelt; es wird in je 2 tarierte Kolben von 250 ccm gebracht.

Man nimmt von jedem Kolben 2 Portionen von 20 ccm für 2 Kjeldahlbestimmungen. Je 20 ccm enthalten 0,24 g Milzpulver. Die Werte der Kjeldahlbestimmung sind 17,0 und 16,8 (Mittel 16,9) ccm $^n/_{10}$-NaOH. In 0,24 Milzpulver sind also 0,02366 g N. In 3 g 0,295 g N und in 100 g Milzpulver 9,79 g N.

Ammoniak-N. Für 200 ccm Flüssigkeit, die 2,4 g Trockenmilz entsprechen, wurden 13,7 ccm $^n/_{10}$-NaOH verbraucht, gleich 0,0918 N. In 3 g hat man 0,0239 N und in 100 g Milzpulver 0,795 N.

Melanin-N. Für dieselbe Quantität wie für NH_3-N verbraucht man 10 ccm $^n/_{10}$-NaOH, das sind 0,0140 g N in 2,4 g Milzpulver. In 3 g 0,0175 g und in 100 g Milzpulver 0,582 g.

Cystin-N. Aus 0,16 g Protein 0,0175 g $BaSO_4$. Jedes Milligramm $BaSO_4$ entspricht 0,06 mg Cystin N. Für 100 g Milzpulver erhält man 0,0047 g N.

Arginin-N. Für 0,60 g Milzpulver wurden im Mittel 1,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH verbraucht, das sind 0,00364 g N, und in 100 g Milzpulver 0,51 g N.

N der Basen. Für 0,60 g Pulver wurden 5,1 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht, das ist 0,01428 g N. In 100 g Milzpulver sind 2,87 g N. Wenn man die Werte des Arginins addiert hat, erhält man 6,4 ccm $^n/_{10}$-NaOH; das sind 2,87 g Gesamt-N der Basen in 100 g Milzpulver.

Amino-N der Basen. Aus 0,15 g Milzpulver wurden 4,2 ccm N als Gas (Druck 744 mm, Temperatur 18°) erhalten; nach der Tabelle erhält man den Wert 0,00236 g Amino-N, das sind 1,47 g Amino-N in 100 g Milzpulver.

Amino-N des Filtrates der Basen. Aus 0,16 g Milzpulver wurden 9,5 ccm N in Form von Gas erhalten.

Das zeigt 5,2527 mg Amino-N in 100 g Milzpulver.

Total-N des Filtrates der Basen. Für je 0,40 g Milzpulver verbrauchte man 15,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH (Mittel aus 3 Kjeldahlbestimmungen), das sind 0,0225 g N In 100 g Milzpulver 5,41 g N.

Purinbasen. Für 3 g Trockenmilz wurden 5,8 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge verbraucht, entsprechend 0,00812 g N und in 100 g Substanz 0,27 g Purinbasen-N.

Setzt man die 9,79% Total-N gleich 100, so erhält man 2,75% Purinbasen-N.

P (nach Neumann). Für 0,4916 g Milzpulver wurden 9,4 ccm $^n/_2$-Natronlauge resp. Salzsäure verbraucht. Diese entsprechen 5,198 mg P.

100 g Milzpulver enthalten 1,05% P.

Berechnet als P_2O_5 2,42%.

Zucker (nach Bertrand). (Hydrolyse 3 Stunden mit 10 prcz. Salzsäure.)

Für 0,6005 g Pulver wurden 5,9 ccm obgenannte Permanganatlösung verbraucht, das sind 4,91% Milzpulver.

Über die Chemie der Lunge.

I. Mitteilung.

Von

Ubaldo Sammartino (Rom).

(Aus dem Laboratorium der Ludwig-Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 4. August 1921.)

Während die physiologische Chemie sich seit jeher bemüht hat, aus verschiedenen Organen Stoffe rein darzustellen, ist die systematische Durcharbeitung eines Organes nie im vollen Maße durchgeführt worden. Die Forscher begnügten sich zumeist, je nach der chemischen Gruppe, welche sie interessierte, aus den einzelnen Organen Verbindungen dieser Art darzustellen, und zwar so, daß wir in Wirklichkeit zur Kenntnis verschiedener Stoffe gelangt sind, ohne die chemische Zusammensetzung auch nur eines Organes vollständig zu kennen. In der gegenwärtigen Arbeit wird der Versuch gemacht, systematisch ein Bild von der vollständigen chemischen Zusammensetzung eines Organes zu gewinnen und zwar vorerst der Lunge.

Bei allen Untersuchungen dieser Art muß man sich vor Augen halten, daß die Organe nicht nur die ihnen eigenen Gewebsbestandteile beinhalten, sondern durchflossen sind von Blut und Lymphe, und daß es daher Schwierigkeiten hat, diese häufig eine beträchtliche Rolle spielenden Medien aus der Betrachtung und der Analyse auszuschalten, um so mehr, als selbst bei völligem Ausbluten der Organe doch beträchtliche Reste von Blut und Lymphe in den zu untersuchenden Organen übrigbleiben, und daß das Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung oder einer der sonst bekannten physiologischen Salzlösungen eventuell geeignet wäre, Stoffe irgendwelcher Art aus dem zu untersuchenden Gewebe mit auszuführen. Deshalb ist es trotz dieser Fehlerquelle nur angängig, frische, ausgeblutete Organe der Untersuchung zuzuführen.

Auch die Chemie der Lunge ist, obwohl seit vielen Jahren dieses so lebenswichtige Organ nach einigen Richtungen hin untersucht wurde, nie systematisch bearbeitet worden.

Die älteren Forscher begnügten sich damit, in allen Organen vorkommende Verbindungen in den Extrakten der Lunge ebenfalls aufzusuchen und zu kon-

statieren, daß die Lunge Harnstoff, Traubenzucker und Glykogen, ebenso Inosit, enthält. Viel wichtiger war die Analyse der anorganischen Bestandteile und zeigte einzelne sehr beachtenswerte Befunde. So hat C. W. Schmidt auf der Klinik Kussmaul[1]) Aschenanalysen des Lungengewebes durchgeführt und viel Natrium gefunden, während der Kaligehalt im Gegensatz zu den anderen Geweben sehr gering war. Die meisten anderen Gewebe enthalten sehr viel Kalium, welches ja das Leichtmetall der Zellen ist, im Gegensatz zu Natrium, welches als Leichtmetall der zirkulierenden Medien anzusehen ist, des Blutplasmas und der zellfreien Lymphe. Nur der Knorpel macht sonst eine Ausnahme, dessen Kochsalzreichtum ja nach G. Bunge besonders hoch ist. Sehr groß erscheint auch in den Analysen von Schmidt der Eisengehalt, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß die Lungen viel Blut enthalten und das Eisen des Hämoglobins die Eisenwerte ungemein nach der positiven Richtung hin verändert. Es ist ebenso auffällig, daß der Hauptbestandteil der Asche und zwar ungefähr die Hälfte, aus Phosphorsäure besteht, so daß die Lungenasche 3—4 mal soviel Phosphorsäure enthält als die Blutasche, woraus ohne weiteres geschlossen werden kann, wenn man die Gesamtanalyse berücksichtigt, daß die Phosphorsäure nicht in anorganischen Bestandteilen in der Lunge enthalten ist, sondern aus den Phosphatiden und Nucleinsäuren in der Lungensubstanz stammt, die also in viel größerer Menge vorhanden sein müssen als im Blut.

Sehr auffällig ist, daß in allen vorliegenden Analysen normaler und pathologischer Menschenlungen der Kieselsäuregehalt ein sehr hoher ist, ein Kieselsäuregehalt, der durchaus nicht immer auf die Inhalation von Staub in die Bronchien zurückgeführt werden kann. So enthalten normale Menschenlungen auf 100 Gewichtsteile Asche 13,4 Gewichtsteile Kieselsäure, anämische 17,3, Hundelungen 14,3, emphysematische Lungen 4,23, tuberkulöse 9,5 und pneumonische 6,01, und der Aschengehalt der Lungen schwankt überhaupt in sehr weiten Grenzen. Die in den Lungen vorkommende Kieselsäure ist nach der Ansicht von Rohden[2]) notwendig für die Bildung von haltbarem elastischen Fasergewebe und von epidermoidalen Gebilden. So ist ja bekanntlich die Magenasche ungemein kieselsäurereich; sie enthält ja bis 40% Kieselsäure, ebenso die Federn der Vögel, von denen Drechsel behauptete, daß sie Kieselsäure in Form eines Cholesterinesters enthalten, und Pankreas enthält in seiner Asche relativ noch mehr Kieselsäure.

Es ist nun von großem Interesse, daß die Asche der Bronchialdrüsen eine ähnliche prozentuelle Zusammensetzung hat wie die der Lungen.

Über die Phosphatide der Lunge sind relativ wichtige Untersuchungen durchgeführt worden. So hat L. Zoja[3]) im Auswurf der Lunge eine im kalten Alkohol unlösliche, zum Teil in Äther lösliche, im warmen Äther leicht lösliche Substanz gefunden, die sich mit Osmiumsäure braun färbt. Diese Substanz enthält 3,5% Phosphor. L. Zoja nahm an, daß diese Substanz, die er für Lecithin ansprach und die ja tatsächlich ihrem Verhalten nach dem Lecithin entspricht, aus den Bronchien entstand. Es ist ja auch späterhin von deutschen Forschern, insbesonders von Schmidt, gezeigt worden, daß im Auswurf der Lunge myelinartige Formen zu finden sind, welche phosphorhältig sind, so daß das Bronchialsekret anscheinend in größerer Menge Phosphatide führt.

Über die Fermente in der Lunge gibt es auch einige Untersuchungen.

So hat N. O. Schumoff-Sieber[4]) gefunden, daß die Lunge ein fettspaltendes Ferment enthält und daraus geschlossen, daß die Lunge außer der Atem-

[1]) Archiv für klinische Medizin **2**, 89.

[2]) Verhandlung des 2. Kongresses für innere Medizin **1902**, 448, 456.

[3]) Gazetta medica di Torino **45**; 1894.

[4]) Ruski Wratsch **51**, 1766; 1907.

funktion noch der Ort ist, wo komplizierte Zellmetamorphosen und Stoffwechselprozesse ablaufen, eine Behauptung, die aus diesem einzigen Befunde allein nicht erklärt werden kann, aber es ist ja aus späteren Arbeiten bekannt, daß tatsächlich in der Lunge noch andere wichtige physiologische Prozesse durchgeführt werden. Es hat dann Nadine Sieber[1]) gefunden, daß das fettspaltende Ferment aus derselben Lunge verschiedene Fette mit verschiedener Intensität verseift. Man hat mit Sicherheit in der Lunge Enzyme ermitteln können, welche desamidierende, oxydierende und urikolytische Vorgänge durchführen, welche sich auf die Nucleinsäuren beziehen. Der auffällige Reichtum an Phosphorsäure in der Lunge weist ja, wie oben erwähnt, schon darauf hin, daß in der Lunge relativ viel Phosphatide enthalten sind, ein Befund, der sich auch damit deckt, daß in dem Sekret im Auswurf so viele Forscher myelinartige Formen und in der Asche des Auswurfes Phosphorsäure gefunden haben. N. Sieber[2]) und ihre Mitarbeiter haben nun zuerst die Chemie dieser Lipoide zu studieren versucht. Sie fand in den Lungen Lecithin, das sie aber nicht rein darstellen konnte, ferner eine Substanz, die sie als Jecorin anspricht, aber wir wissen ja, daß das Jecorin, welches Drechsel aus der Leber dargestellt hat und das später von einigen Forschern studiert wurde, sicherlich kein einheitliches System ist, sondern ein Gemenge verschiedener Körper, daß also auch dieser Befund von Nadine Sieber nur mit größter Vorsicht aufzunehmen ist und jedenfalls nicht dem heutigen Stande der Lipoidforschung entspricht. Auffällig ist ihr Befund einer Substanz, die sie als Cholesterin anspricht. Der Schmelzpunkt ist aber zu niedrig befunden. Die Substanz enthielt noch immer Stickstoff und war optisch inaktiv. Jedenfalls war es ihr nicht gelungen, eine so leicht darstellbare Substanz wie das Cholesterin rein darzustellen. Aber eines ist aus ihrer Untersuchung klar erwiesen, daß sie keinen Cholesterinester in der Hand hatte. Ihre Analysen von Pferdelungen ergaben einen Wassergehalt von rund 77% und die getrocknete Substanz enthielt 4,28% Asche, ein Befund, der weit niedriger ist als der von Schmidt in den alten Analysen ermittelte. Der gesamte Phosphor betrug 1% und der anorganische Phosphor die Hälfte davon. Der Eisengehalt, als Eisen berechnet, war nur 0,0174%, der Schwefelgehalt 0,92%. Die getrocknete Substanz enthielt 12,68% Stickstoff, davon war 0,0231% Ammoniakstickstoff, 10,98% Proteinstickstoff und mit Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff 0,557%, und im Filtrate nach der Phosphorwolframsäurefällung waren noch 0,523% Stickstoff. Die getrocknete Pferdelunge enthielt 10% mit Äther extrahierbare Substanz, welche 0,75% Phosphor enthielt.

Ein französischer Forscher, Poullè, glaubt in der Lunge eine Pulmoweinsäure gefunden zu haben, auf welcher die saure Reaktion der Lunge beruhen soll, aber seine analytischen Daten, welche seine Behauptung beweisen sollen, sind sehr dürftig.

Nach dieser kritischen Betrachtung über die vorliegende Literatur des Lungengewebes erschien es uns notwendig, da die physiologische Chemie in den letzten Jahrzehnten so viele und wichtige Resultate bei der rein chemischen Durcharbeitung und Darstellung der in den Organen enthaltenen Verbindungen gezeitigt hat und verschiedene in den meisten Organen enthaltene Verbindungen rein dargestellt waren und von sehr vielen die Konstitution ermittelt ist, so daß die Beziehungen der verschiedenen Verbindungen untereinander viel klarer und übersichtlicher

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **55**, 177; 1908.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **62**, 259; 1907.

wird, jedes Organ für sich vollständig durchzuarbeiten und sowohl die Eiweißkörper als auch die Lipoide, Nucleinsäuren und Extraktivstoffe bei verschiedenen Tierarten in der Weise zu untersuchen, so daß man dann zu bestimmten Vorstellungen von dem Bestand der Organe an verschiedenen Stoffen gelangen kann. In unseren Abhandlungen soll vorerst die Lunge von diesem Gesichtspunkte aus vollständig nach unseren Untersuchungen beschrieben werden.

In der vorliegenden ersten Mitteilung besprechen wir die Lipoidstoffe der Rinderlunge, die wir wegen der leichten Beschaffbarkeit des Materiales in frischer einwandfreier Form als erstes Untersuchungsobjekt gewählt haben.

Die Lipoide der Rinderlunge.

Die von uns angewandte Methodik hielt sich im großen und ganzen an die im hiesigen Institut bei Berücksichtigung der Erfahrungen anderer Laboratorien bei der Aufarbeitung der Gehirne geübte Methodik, die aber in einzelnen Teilen aus dem Grunde geändert werden mußte, weil im Gegensatze zum Gehirn die anderen tierischen Organe neben Cholesterin auch Cholesterinester enthalten und außerdem Glycerinfette.

Wir haben die frischen, im Winter aus dem Schlachthaus erhaltenen, möglichst ausgebluteten Rinderlungen präparativ von den großen Ästen der Bronchien befreit, vermahlen und in dem schon beschriebenen Vakuumapparat[1]) bei einer 30° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet. Wir erhielten 1 kg 180 g Trockensubstanz, die nun auf einer Stahl-Seckmühle mit feinen Riffelwalzen zu einem allerfeinsten Pulver vermahlen wurde. Dieses Pulver wurde dann auf einem großen metallenen Soxlethextraktor[2]) mit niedrig siedendem Benzin erschöpfend extrahiert und der Benzinextrakt im Vakuum sehr stark eingeengt. Dieser Benzinextrakt wurde für sich verarbeitet. Das mit Benzin erschöpfte Pulver wurde von dem anhaftenden Benzin im Vakuum befreit und nun mit siedendem Alkohol unter Rückflußkühlung gekocht, die alkoholische Lösung siedendheiß filtriert und jedesmal das Pulver nach der Extraktion auf einer gewärmten Presse möglichst stark abgepreßt, da ja sonst erfahrungsgemäß das Pulver sehr viel Alkohol und damit auch alkoholischen Extrakt zurückhält. Dieser Vorgang wurde solange durchgeführt, bis der Alkohol nur noch Spuren von Substanzen löste. Sämtliche alkoholischen Extrakte wurden vereinigt und im Vakuum durch Destillation auf ein kleines Volumen eingeengt. Hierauf wurde das mit diesen beiden Lösungsmitteln erschöpfte Pulver mit siedendem Wasser mehrfach ausgekocht und auch der wässerige Extrakt im Vakuum stark eingeengt.

[1]) Diese Zeitschr. **74**, 170. 1916.

[2]) Beschrieben in dieser Zeitschr. **36**, 245. 1911.

Wir verfügten nun über 3 Hauptextrakte, welche in folgender Weise aufgearbeitet wurden.

Benzinextrakt.

Der Benzinextrakt wurde vorerst mit Aceton gefällt und die Fällung mehrfach mit Aceton extrahiert. Die Acetonfällung, welche erfahrungsgemäß immer noch weiße Materie enthält, wurde in Äther gelöst und nach einigem Stehen in der Kälte zentrifugiert, bis der Äther klar war, Die ätherische Lösung wurde zur Abscheidung des Kephalin nach dem Einengen mit Alkohol gefällt, die Kephalinfällung wieder in Äther gelöst, wieder zentrifugiert und wieder mit Alkohol gefällt, bis man mit Äther eine klare Lösung bekommt, die sich beim Stehen nicht mehr trübt. Diese wurde mit Alkohol gefällt, mit Aceton gewaschen:

Rohkephalin.

Dieses Rohkephalin wurde nur in kleinen Mengen erhalten. Bekanntlich ist die Reinigung des Kephalins aus dem Gehirn, in dem diese Substanz ja den Hauptbestandteil der Phosphatide bildet, eine besonders schwierige, und die Analysenresultate stimmen selbst bei den reinst dargestellten Präparaten, nicht mit der Theorie überein, sondern ergeben zu hohe Sauerstoffwerte. Dieser Umstand wurde durch die Untersuchung von Mac Lean und P. Levene auf diese Weise aufgeklärt, daß die Kephalinpräparate immer sowohl Bruchstücke des Lecithins als auch des Kephalins selbst enthalten, welche auf die übliche Weise nicht entfernbar sind. Wir haben das Rohkephalin, welches wir auf die beschriebene Weise erhalten haben, um es noch reiner darzustellen, mit Wasser in der von S. Fränkel und E. Neubauer[1]) beschriebenen Weise gereinigt, indem wir es in destilliertem Wasser emulgierten, auf das feinste verrieben und diese Emulsion auf der Zentrifuge ausschleuderten und von dem ungelösten dekantierten. Die opalisierende Lösung, welche aber keinen Satz mehr zeigte, wurde mit Salzsäure gefällt und die Fällung mit Äther aufgenommen, — die getrocknete ätherische Lösung mit Alkohol gefällt und mit Aceton gewaschen.

Das nun im Vakuum getrocknete Präparat wurde analysiert und zwar nach der Mikroanalyse von Pregl.

6,6 mg Substanz geben 0,164 ccm N bei 22,5 und 747 mm Hg, entsprechend 2,82% N.

4,110 mg geben 0,106 ccm N bei 23° und 747 mm Hg, entsprechend 2,92% N.

Die Mikroanalysen des Phosphor nach Hans Lieb geben folgende Resultate:

6,085 mg geben 0,206 mg P, das ist 3,38% P.

[1]) Diese Zeitschr. **21**, 321. 1909.

Daher ist die Relation von Stickstoff zu Phosphor genau 2 : 1, während Kephalin, mit dem die Substanz sonst alle physikalischen und chemischen Eigenschaften teilt, die Relation 1 : 1 zeigt. Wir hatten leider nicht mehr Substanz zur Verfügung, um uns zu überzeugen, ob diese Substanz ein Gemenge oder einheitlich ist. Wir haben es vorgezogen, den Rest der Substanz zu einer Bestimmung der Aminogruppe zu verwenden, da ja Lecithin keinen Aminostickstoff abgibt, Kephalin aber, in dem Aminoäthylalkohol als Base enthalten ist, seinen gesamten Stickstoff als Amino-N abgibt.

Wir haben nun, um zu sehen, wieviel Aminostickstoff in der analysierten Verbindung ist und daraus zu erschließen, ob es sich um ein Gemenge von Kephalin mit Lecithin oder seine Bruchstücke handelt oder um irgendeine in bestimmten Proportionen vorkommende Verbindung beider, die Aminostickstoffbestimmung nach van Slyke durchgeführt.

0,1843 g Substanz wurden in 20 ccm Flüssigkeit gelöst, welche 5 ccm 10 proz. Natronlauge enthielt. In den van Slyke-Apparat wurden 19,6 ccm der Lösung eingelassen, was 0,1806 g Substanz entspricht. Der blinde Versuch gibt 0,25 ccm Gas, der Hauptversuch 0,7 ccm bei 22° und 748 mm Quecksilber. Die Differenz macht 0,45 ccm aus, was 0,0138 g Amino-N entspricht.

Da die Gesamtstickstoffbestimmung nach Dumas für das vorliegende Präparat 2,82% ergab, so zeigt die Bestimmung nach van Slyke, daß von diesen 48,22% in Form von NH_2 bzw. Aminoäthylalkohol enthalten sind, also fast genau die Hälfte. Es ist daher die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß das Kephalin mit einem phosphorfreien, cholinhaltigen Bruchstück des Lecithins eine Verbindung gibt, die in einfacher Proportion zusammengesetzt ist. Mehrere Beobachtungen scheinen darauf hinzuweisen, so die Beobachtungen von Falk, Erlandsen und Linnert und diese Untersuchung. Es wäre ja sonst sehr auffällig, daß neben dem reinen Kephalin und dem reinen Lecithin von verschiedenen Forschern Substanzen gefunden wurden, die genau die Proportion P : N = 1 : 2 haben, und daß sowohl Mac Lean als Levene zeigen konnten, daß man durch Reinigung aus den ursprünglichen Präparaten sowohl Lecithin als auch Kephalin mit der Proportion N : P wie 1 : 1 erhält. Es ist wohl das naheliegendste, daran zu denken, daß das Cholin in eine Verbindung mit Kephalin im Verhältnis von 1 : 1 tritt.

Die alkoholische Lösung, die nach der Abscheidung des Kephalins hinterblieb, wurde eingeengt und nach dem bei uns üblichen Verfahren mit einer ammoniakalischen Bleizuckerlösung gefällt, um den von S. Fränkel und F. Kafka[1]) beschriebenen Dilignoceryldiglykosaminmonophosphorsäureester abzutrennen.

[1]) Diese Zeitschr. **101**, 159. 1920.

Die Lösung gab eine weißliche Fällung, welche auch die sonstigen Eigenschaften zeigte, wie sie in der obenerwähnten Arbeit niedergelegt sind, aber für eine Reindarstellung der Verbindung reichte die Menge nicht aus. Die bleihaltige, schwach ammoniakalische Lösung wurde nach dem Abfiltrieren des Bleiniederschlages solange mit Schwefelsäure versetzt, als noch ein Niederschlag entstand und die Reaktion gerade sehr schwach sauer wurde. Nun setzt man eine Spur Ammoniak zu, bis die schwachsaure Reaktion verschwindet, läßt absitzen, filtriert von dem ausgeschiedenen schwefelsauren Ammon und schwefelsauren Blei, konzentriert die alkoholische Lösung nach dem Abfiltrieren und fällt mit Aceton. Die acetonige Fällung wurde hierauf in Äther gelöst und wieder mit Aceton gefällt.

Die acetonige Mutterlauge krystallisierte nun. Beim Umkrystallisieren aus 85 proz. Alkohol erhielt man nach mehrfachem Krystallisieren Cholesterin vom richtigen Schmelzpunkt 147,5° in den typischen Formen, das alle bekannten Reaktionen des Cholesterins gab. Wir haben insgesamt reines Cholesterin 3,4 g auswiegen können. Damit ist das Vorkommen von freiem Cholesterin im Lungengewebe nachgewiesen.

Die Acetonfällung, welche nun das rohe Lecithin beinhalten mußte, haben wir in Alkohol gelöst und mit einer 10 proz. alkoholischen Chlorcadmiumlösung gefällt.

Eine ebenso große Menge von diesem Lecithin haben wir dann im alkoholischen Extrakt der Lunge gefunden, was zeigt, daß bei der Lunge die Benzinextraktion nicht so durchgreifend ist, wie die nachfolgende Alkoholextraktion, eine Beobachtung, die man ja auch beim Eidotter machen kann, wo der Ätherextrakt nicht das gesamte Lecithin beinhaltet, sondern erst die darauffolgende Alkoholextraktion Lecithin herausholt. Wir haben den alkoholischen Extrakt nach Abscheidung der weißen Materie so behandelt, wie wir es für den Benzinextrakt beschrieben und das erhaltene Lecithin in alkoholischer Lösung ebenso mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung gefällt. Die Lecithinchlorcadmiumverbindung wurde nun in Toluol gelöst und zwar in einem Überschuß und solange destillierend gekocht, bis das überdestillierende Toluol rein läuft und keine Wassertrübung mehr zeigte. Dieser Vorgang wurde 2 mal durchgeführt. Die erhaltene Substanz schmilzt bei 212°, während die von A. Kaesz beschriebene (siehe diese Zeitschr., vorstehende Abhandlung S. 216) und gefundene Chlorcadmiumverbindung des Gehirnlecithins und zweitens des Stearyllecithins bei 184° schmilzt. Levene und Rolf geben für ihre Lecithinchlorcadmiumverbindungen überhaupt keinen Schmelzpunkt an[1]). Diese Lecithinchlorcadmiumverbindung haben wir nun der Analyse unterworfen.

[1]) Journ. of biol. chem. **46**, 343. 1921.

6,610 mg Trockensubstanz geben 0,108 ccm N bei 26° und 741 mm Hg, das ist 1,82% N.

4,380 mg Substanz geben 0,072 ccm N bei 26° und 741 mm Hg, das ist 1,83% Stickstoff.

Die Mikrophosphorbestimmung ergab: 6,345 mg Substanz geben 0,222 362 44 mg Phosphor, das ist 3,51%. Das Verhältnis von N zu P ist daher fast genau 1 : 1.

Die Cadmiumbestimmung ergab: 0,324 g Lecithinchlorcadmium gaben nach dem in den Arbeiten über Lipoide von S. Fränkel publizierten Verfahren 0,073 g Cadmiumsulfat entsprechend 12,15% Cadmium, während das Stearyllecithin 1,42% N, 3,14% P, 11,37% Cadmium und das Palmitylleeithin 1,45% N, 3,50% P, 11,70% Cadmium verlangt. Trotz der geringen Mengen, die wir erhalten haben, nähern sich die erhaltenen Werte ungemein den theoretischen.

Die Acetonfraktion.

In der erhaltenen Acetonlösung, aus der das Cholesterin abgeschieden war, war noch immer N und P enthalten. Trotzdem wir die Acetonlösung häufig einengten und wieder mit Aceton aufnahmen, ging in das Aceton noch immer eine phosphorhaltige Substanz über, welche auch Stickstoff enthielt und mit alkoholischer Chlorcadmiumlösung keine Fällung gab. Die Substanzen aus der Acetonlösung wurden nun wiederholt umkrystallisiert und, wie schon oben erwähnt, haben wir reines Cholesterin in erheblichen Mengen in der ersten Fraktion gefunden, welches alle Reaktionen gab, den richtigen Schmelzpunkt zeigte und mit reinstem Cholesterin aus Gehirn gemischt beim Mischschmelzpunkt keine Erniedrigung des Schmelzpunktes aufwies. Aus der alkoholischen Mutterlauge des Cholesterins haben wir nun fraktioniert Verbindungen krystallisieren können, welche die Cholesterinreaktionen gaben, aber niedrigere Schmelzpunkte zeigten als beim Cholesterin selbst und nach dieser Richtung hin alle Eigenschaften der Ester des Cholesterins aufwiesen. Bis nun wurden bekanntlich von den Estern des Cholesterins in den Geweben 3 nachgewiesen: Cholesterinstearat, Schmelzpunkt 82°, Cholesterinpalmitat, 77—78°, und Cholesterinoleat, 51—58°. Wir fanden nach vielfachem Umkrystallisieren den Schmelzpunkt der höchstschmelzenden Fraktion mit 69° und einer weiteren Fraktion mit 64°. Wir haben, um die Natur der im Ester enthaltenenen Fettsäure zu bestimmen, die reinsten Fraktionen mit Natriumäthylat in alkoholischer Lösung verseift. Die alkoholische Lösung wurde mit Wasser versetzt, mit Salzsäure neutralisiert und mit Chlorcalcium gefällt. Die ausfallenden Kalkseifen enthielten auch das mitfallende Cholesterin. Wir trockneten nun die Kalkseifen und extrahierten sie mit Äther und erhielten so reines Cholesterin mit dem richtigen Schmelzpunkt, so daß

kein Zweifel sein kann, daß wir es mit Estern des Cholesterins zu tun haben. Die vom Cholesterin befreiten Kalkseifen wurden nun im Wasser verteilt, Äther darübergeschichtet und Salzsäure zugesetzt. Die in Freiheit gesetzten Fettsäuren gingen in den Äther über. Dieser wurde abgetrennt und die resultierende Fettsäure wiederholt aus Aceton umkrystallisiert, bis sie den konstanten Schmelzpunkt 71° erreichte, also den Schmelzpunkt der Stearinsäure.

In der zweiten Fraktion der Cholesterinester haben wir nach derselben Methode ebenfalls nach der Verseifung reines Cholesterin und ebenfalls Stearinsäure nachweisen können, so daß die Hauptmenge des Esters aus Cholesterinstearat besteht.

Wir haben dann nach Abscheidung der Cholesterinester in den Mutterlaugen eine krystallisierende Substanz gefunden, die keine Cholesterinreaktion mehr gab und, aus Alkohol mehrfach umkrystallisiert, schließlich den Schmelzpunkt 62° zeigte. Wir überzeugten uns, daß diese Substanz weder Stickstoff noch Phosphor enthält und verseiften sie in beschriebener Weise mit Natriumäthylat, isolierten in beschriebener Weise die Fettsäure, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton den Schmelzpunkt 62° gab und deren Lithiumsalz wir nun darstellten. Das Lithiumsalz gab: 0,1329 g Substanz, mit Schwefelsäure abgeraucht, geben 0,0271 g Lithiumsulfat, entsprechend 2,584% Lithium, berechnet für Lithiumpalmitat 2,64%, während das Lithiumstearat 2,41% Lithium verlangt.

In der Substanz selbst konnte mit saurem Kaliumsulfat beim Erhitzen Akrolenbildung konstatiert werden, so daß ein Glycerinfett vorlag und zwar ein Glycerinpalmitat.

Die weiße Materie.

Wir haben die weißen Absätze aus den Alkoholextrakten, die wir bei der Reinigung des Kephalins erhalten haben, vereinigt und mit Äther im Soxlethapparat extrahiert. Hierauf lösten wir die in Äther unlöslichen weißen Absätze in heißem Pyridin und filtrierten auf dem Heißdampftrichter und erhielten nach 2maligem Umkrystallisieren ungefähr 15 g der weißen Substanz. Ein Teil der Substanz wurde mit Soda-Salpeter nach Liebig geschmolzen, hierauf die Schmelze in Wasser gelöst und geteilt. Die eine Hälfte wurde mit Salpetersäure angesäuert und in ihr mit molybdänsaurem Ammon Phosphor nachgewiesen. Der zweite Teil der Schmelze wurde mit konzentrierter Salzsäure angesäuert, eingedampft, wieder mit konzentrierter Salzsäure versetzt und eingedampft und in der Salzlösung mit Chlorbarium Schwefelsäure gefällt. Die weiße Materie erwies sich, wie es auch den in diesem Laboratorium von Oskar Gilbert durchgeführten Versuchen entspricht, sowohl phosphor- als auch schwefelhaltig. Wir sehen hier, daß auch in der

Lunge die weiße Materie außer aus Cerebrosiden aus Phosphorsulfatiden besteht.

Der übrige Teil der weißen Materie wurde nach dem von Oskar Gilbert beschriebenen Verfahren in heißem Methylalkohol gelöst und mit heißer methylalkoholischer Ätzbarytlösung gefällt. Der Niederschlag wurde filtriert, mit Methylalkohol kalt ausgewaschen, im Wasser zerteilt, Kohlensäure eingeleitet und hierauf wieder mit Wasser ausgewaschen, dann mit kaltem Alkohol gewaschen und mit siedendem Alkohol erschöpfend extrahiert. Die weißen Absätze aus den Alkoholextrakten sind Cerebroside. Diese Cerebroside geben mit Orcin, Salzsäure, Eisenchlorid und Amylalkohol die bekannte Grünreaktion der Galaktose und unterscheiden sich von den im Gehirn gefundenen durchaus nicht. Wir konnten also in der weißen Materie die im Gehirn gefundenen Bestandteile Cerebroside (Phrenosin und Kerasin) sowie Phosphorsulfatide nachweisen.

Zusammenfassung.

Das Lungengewebe enthält also größere Mengen von freiem Cholesterin, von Cholesterinestern, Glycerinpalmitat, von ungesättigten Phosphatiden: Lecithin und Kephalin, ferner eine sehr reiche Menge von Cerebrosiden und Phosphorsulfatiden. Es ist sehr auffällig, daß relativ sehr wenig Lecithin und Kephalin, aber sehr reiche Mengen des sogenannten Protagons, des Gemenges von Cerebrosiden und Phosphorsulfatiden vorkommen. Auch der reiche Gehalt an Cholesterin und Cholesterinestern ist hervorzuheben.

Über die Funktion der Verdauungsdrüsen bei Avitaminosen.

Von

Koichi Miyadere (Tokio).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 13. August 1921.)

Da in der Literatur bei der Deutung wichtiger Störungen, die im Verlauf vitaminfreier Ernährung sich einstellen, immer wieder auf die Möglichkeit hingewiesen wird, daß eine Ursache hierfür in einer mangelhaften Funktion der Verdauungsdrüsen gesucht werden müsse, die eine schlechte Ausnutzung der Nahrung bedinge, habe ich auf Vorschlag von Herrn Professor Bickel die Frage experimentell untersucht, wie sich bei vitaminfreier Kost die Magensaftsekretion verhält. Die Versuchsanordnung war folgende: Ein Hund, dem ein Pawlowscher Magenblindsack angelegt worden war, wurde bis zum Eintritt schwerer Krankheitserscheinungen (allgemeine Hinfälligkeit, Indolenz, Auftreten von Ödemen) mit vitaminfreier Kost ernährt. Er erhielt polierten Reis und reines Weizeneiweiß, das ich von der chemischen Fabrik von Klopfer in Dresden bezogen hatte. In der letzten Woche vor Abbruch des Versuchs erhielt das Tier noch eine Zulage von vitaminfreiem Schweineschmalz, um festzustellen, ob der allmählich eingetretene Körpergewichtsverlust durch eine solche Fettzulage aufgehalten werden könnte. Das war in geringem Umfange möglich.

Es wurden nun von Zeit zu Zeit Sekretionsversuche an dem Tiere gemacht, einmal vor Beginn der vitaminfreien Ernährung, dann aber vor allem während derselben. Als Probekost, die immer dem völlig nüchternen Tiere gegeben wurde, diente einmal das vitaminfreie Futter für einen Tag, dann aber auch bei anderen Versuchen 100 ccm einer 5 proz. wässerigen Lösung von 96 proz. Alkohol, die das Tier mit der Sonde in den großen Magen eingegossen erhielt. Die Alkoholprobekost war deshalb gewählt worden, weil Alkohol ein starker Sekretionsreiz ist, und weil mit Alkohol kein Vitamin dem Körper zugeführt wird.

Das Ergebnis dieses Versuchs war folgendes: Auf die Reis-Weizeneiweiß- oder auf die Reis-Weizeneiweiß-Schweineschmalznahrung wurde

so gut wie gar kein Magensaft gebildet, dagegen erfolgte auf die Alkoholgabe hin während der ganzen 70tägigen Versuchsdauer immer eine ungefähr gleichstarke Sekretion, so stark, wie sie auch schon vor Beginn der vitaminfreien Ernährung gewesen war.

Aus alledem folgt, daß bei der Avitaminose das Sekretionsvermögen der Magendrüsen nicht gestört ist, daß aber in dem gewählten vitaminfreien Nahrungsgemisch alle Reizstoffe fehlen, die eine nennenswerte Sekretion auslösen könnten.

Bei den großen technischen Schwierigkeiten, die ein solcher Versuch, wie der hier geschilderte, in sich birgt, mag dieses eine Experiment genügen. Es erhob sich nun die Frage, ob das Vitamin als solches den Sekretionsreiz für die Drüsen gibt. Uhlmann[2]) hatte darauf hingewiesen, daß Vitamine auch Sekretionscharakter haben könnten. Das gelte speziell auch für das Vitamin der Reiskleie. Ich habe nun bei einem zweiten Hunde mit Pawlowschen Magenblindsack einmal eine Reis-Weizeneiweißnahrung und das andere Mal eine Reis-Reiskleie-Weizeneiweißnahrung gegeben und die daraufhin zur Abscheidung kommenden Saftmengen verglichen. Ein Unterschied war nur in geringem Maße vorhanden; der vitaminhaltige Reis war ein etwas stärkerer Sekretionserreger als der vitaminfreie. Daraus geht hervor, daß wohl nicht der Mangel an Vitamin in erster Linie die Ursache für die Sekretionsstörung ist, sondern daß der Grund für diese gesucht werden muß in dem Fehlen von anderen sekretorisch wirksamen Reizstoffen, die eben in den gebräuchlichen vitaminfreien Nahrungsgemischen fehlen.

Im Zusammenhang mit allen diesen Beobachtungen ist es von höchstem Interesse festzustellen, daß in Japan gerade diejenigen Bevölkerungsschichten, die vornehmlich von Reisnahrung leben, vielfach vor oder zu ihren Reismahlzeiten den ca. 12% Alkohol enthaltenden Reiswein zu trinken pflegen. Sie führen so instinktiv ihrem Magen die in der Reisnahrung fehlenden Reizstoffe für die Magendrüsen in Form von Alkohol zu.

Meine Versuche über das Eintreten und den Charakter der Krankheitserscheinungen infolge vitaminfreier Kost bei Hunden stehen im Einklang mit den Beobachtungen von Suzuki, Shimamura und Odake[3]).

Sie fanden, daß Hunde von 4—6 kg Körpergewicht in Verlauf von etwa 4 Wochen bei vitaminfreier Nahrung an Gewicht allmählich abnahmen, hinfällig wurden und schließlich starben.

Es fragt sich nun, ob wir meine Sekretionsversuche in Beziehung setzen können zu den Magenstörungen, die man bei Beriberi beobachtet. Kitamura und Shimazono[4]) haben unter Leitung von Prof. K. Miura und Prof. S. Nagayo eine sehr sorgfältige Untersuchung über die

Tabelle I.

(Hund I.)

Alkoholmahlzeit: 100 ccm einer 5% wässerigen Lösung von 96% Alkohol.

Vitaminfreie Mahlzeit: 150 g polierter Reis, 50 g Weizeneiweiß, 5 g Kochsalz werden in 600 ccm Wasser gekocht. Bei den Fettzulageversuchen werden dieser Mahlzeit 50 g ausgelassenes Schweineschmalz beigegeben.

Bei den Versuchen mit der vitaminfreien Nahrung wurde jeder Versuch bis zu 4 Stunden Beobachtungsdauer ausgedehnt. In der Tabelle ist nur die Sekretion der vier ersten halben Stunden verzeichnet. In den späteren Stunden klang die Sekretion allmählich ab oder blieb ganz minimal.

Datum	Mahlzeit	Die in den ersten vier halben Stunden nach der Fütterung vom kleinen Magen abgeschiedenen Saftmengen				Totalsaftmengen	Körpergewicht g	Bemerkungen
2. 5. 21	Alkohol	7.5	1.0	0.5	0.0	9.0	14000	Gewöhnliche Kost.
3. 5. 21	„	5,0	1.0	0.2	0.0	6,2	14000	„ „
4. 5. 21	„	6.8	4.0	2.5	0,5	13,8	14000	„ „
6. 5. 21	Reis-Eiweiß	2.0	0.2	0.0	0,0	2,2	14000	Vitamintreie Kost.
7. 5. 21	Alkohol	5.5	2.0	0.5	0.0	8.0	13100	„ „
9. 5. 21	Reis-Eiweiß	1.0	0.8	0.6	0.2	2,6	14020	„ „
10. 5. 31	Alkohol	7,0	2,0	0.8	0,2	10.0		„ „
11. 5. 21	Reis-Eiweiß	1.5	1.0	0.2	0.2	2.9		„ „
13. 5. 21	Alkohol	6.8	3.8	1.5	0.5	12.6		„ „
17. 5. 21	„	6.0	4.5	2,5	0,5	13,5		„ „
18. 5. 21	Reis-Eiweiß	0.0	1.0	2,0	0.5	3,5	12500	„ „
25. 5. 21	Alkohol	5,0	4.5	2.2	0,5	12.2	12050	„ „
27. 5. 21	Reis-Eiweiß	0.5	0.0	0.5	4,0	5,0		„ „
1. 6. 21	Alkohol	5.0	7,0	2.5	0.5	15,0		„ „
7. 6. 21	„	5,2	4.5	3.0	0,8	13.5		„ „
8. 6. 21	Reis-Eiweiß	1,0	1.0	0.5	1,0	3,5		„ „
10. 6. 21	„ „	0,0	0,0	0.0	1,0	1,0		„ „
21. 6. 21	„ „	0.5	0.0	0.2	0,2	0.9		„ „
22. 6. 21	Alkohol	5,0	6,5	2,0	1.0	14,5	10500	„ „
27. 6. 21	„	6.0	3.5	1,2	0,8	11,5		Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
28. 6. 21	Reis-Eiweiß	0.0	0.2	0,5	2,0	2,7		Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
4. 7. 21	Alkohol	5.5	4,0	1,5	0.2	11,2	11000	Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
6. 7. 11	Reis-Eiweiß	0,2	0,0	0,0	0.0	0,2	10600	Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
7. 7. 21	„ „	0,0	0.0	0.0	0,0	0,0		Vitaminfreie Kost ohne Schweineschmalz.
8. 7. 21	Alkohol	7,0	6,5	3.0	1,5	18,0	10750	Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
11. 7. 21	„	6.0	5,0	3,5	1,0	15,5	10800	Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
13. 7. 21	Reis-Eiweiß	0.8	0.9	0,25	0,25	2,5	11200	Vitaminfreie Kost ohne Schweineschmalz.
14. 7. 21	Alkohol	8,0	6.0	2.5	1,5	18.0	11120	Vitaminfreie Kost mit Schweineschmalz.
15. 7. 21	Reis-Eiweiß	0.5	1,5	1.0	2,5	5,5		Vitaminfreie Kost ohne Schweineschmalz.

Tabelle II.
(Hund II.)

Erste Probemahlzeit: 50 g polierter Reis werden mit 250 ccm Wasser gekocht und durch Abdampfen des Wassers auf ein Totalgewicht von 170 g gebracht.

Zweite Probemahlzeit: 40 g polierter Reis + 10 g Reiskleie werden mit 250 ccm Wasser gekocht und durch Abdampfen des Wassers auf ein Totalgewicht von 170 g gebracht.

Zwei Minuten nach der Gabe einer dieser beiden Probemahlzeiten war die Sekretion am Magenblindsack abgeklungen, wie besondere Versuche zeigten. Jede Probemahlzeit wurde also immer auf leeren Magen gegeben.

Versuch	Zeit der Fütterung	Mahlzeit	Saftmengen in ccm				Totalsaftmengen
			½ Std.	1 Std.	1½ Std.	2 Std.	
I	8 Uhr vorm.	Reis	3,0	2,0	1,8	1,0	7,8
	10 Uhr vorm.	Reis mit Reiskleie	4,0	2,5	2,0	1,2	9,7
II	10 Uhr vorm.	Reis mit Reiskleie	2,5	1,8	2,0	1,5	7,8
	12 Uhr vorm.	Reis	2,0	2,0	1,5	1,0	6,5

Magenstörung bei der Beriberi veröffentlicht. Daraus geht hervor, daß diejenigen Patienten, die Magenbeschwerden haben, fast ausnahmslos motorische und sekretorische Störungen erkennen lassen. Subacidität ist der gewöhnlichste Befund, Hyperacidität kommt gelegentlich vor, aber vielleicht erst im Anschluß an eine voraufgegangene Subacidität.

Auch bei meinen Versuchen zeigte sich, daß die Saftsekretion auf die Alkoholgabe hin im Durchschnitt etwas stärker wurde in der letzten Versuchszeit, die Sekretion auf die Reisnahrung aber nahm ab. Letzteres kommt vielleicht daher, daß der Hund, je länger der Versuch dauerte, um so widerwilliger die Reisnahrung nahm. Die Steigerung der Sekretion auf Alkohol, der immer durch die Sonde gegeben wurde, kann dagegen sehr wohl auf eine Schädigung hemmender Nervenfasern bezogen werden, zumal ja bei der Beriberi anatomisch Veränderungen im Vagus und auch in anderen Nerven nachgewiesen worden sind.

Literatur.

[1]) Hofmeister, Über qualitativ unzureichende Ernährung. Ergebn. d. Physiol. **16**, 521, 524, 573. — [2]) Uhlmann, Beiträge zur Pharmakologie der Vitamine. Zeitschr. f. Biol. **68**. 1918. — [3]) Suzuki, Shimamura und Odake, Über Oryzamin, ein Bestandteil der Reiskleie und seine physiologische Bedeutung. Diese Zeitschr. **43**, 89. 1912. — [4]) Kitamura und Shimazono, Über das Verhalten des Magensaftes bei Beriberi. Internat. Beitr. z. Pathol. u. Therap. d. Ernährungsstör. **4**.

Serum und Plasma im Ultramikroskop.

Von

Ernst Salén.

(Aus der I. Med. Klinik zu Stockholm.)

(Eingegangen am 28. August 1921.)

Die älteren Angaben über die physikalisch-chemische Beschaffenheit des Blutplasmas resp. Blutserums vom Standpunkt der ultramikroskopischen Untersuchung weichen voneinander vielfach ab.

Nach A. Mayer erweist sich das Normalplasma resp. Serum[1]), das unter Beobachtung der notwendigen Kautelen gewonnen und in frischem Zustand untersucht wird, ultramikroskopisch als praktisch optisch leer und wird deshalb von Mayer als ein „flüssiges Hydrogel" aufgefaßt. Erst sekundär treten durch verschiedene Behandlung des Plasmas resp. Serums ultramikroskopisch beobachtbare Körnchen auf, deren Anzahl, Größe und Form man durch verschiedene Manipulationen variieren kann.

Eine der Ansicht Mayers entgegengesetzte Auffassung wird von Cesana vertreten, nach dem das Blutplasma normalerweise mehr oder weniger reichlich ultramikroskopisch sichtbare Partikelchen enthalten soll, während Bottazzi zu einem mit Mayer übereinstimmenden Resultat kommt.

Neumann findet bei diesbezüglicher Untersuchung von Menschenserum (resp. Plasma), daß dasselbe zuweilen reichlich ultramikroskopisch gut beobachtbare Partikel enthalten kann. Nach Neumann sollen dieselben indes nur in Zusammenhang mit Fettumsatz im Serum vorkommen; wird fetthaltige Nahrung genommen, so treten schon ca. $1^1/_2$ Stunde danach Partikelchen im Serum auf, vermehren sich während der nächsten Stunden, vermindern sich darauf allmählich in der Anzahl und verschwinden schließlich ganz. Die Menge der Partikel kann nach Neumann beträchtlich wechseln und scheint nach diesem Autor dem Fettgehalt der Nahrung ungefähr proportional zu sein. Serum, das bei nüchternem Magen entnommen worden ist, zeigt sich dagegen nach Neumann als optisch leer. Bei gewissen pathologischen Zuständen, bei denen die Fettresorption gestört ist, sollen auch nach fettreicher Kost die Partikelchen fehlen können. So z. B. bei Passagehindernissen im Magen oder oberem Darmabschnitte, bei Hindernissen für die Entleerung der Galle in den Darm usw.

Auf Grund der oben berichteten Tatsachen, sowie deshalb, weil die Partikelchen nach Neumann im Serum resp. Plasma von Pflanzenfressern (Kaninchen, Meerschweinchen) fehlen sollen, und endlich weil die Partikelchen ätherextrahierbar seien, kommt dieser zu dem Schluß, daß die Körner aus lipoiden Substanzen bestehen, die in Zusammenhang mit der Fettresorption aus dem Darm in das Blut

[1]) Bei der Untersuchung scheint Blut vom Pferd, Hund und Meerschweinchen zur Verwendung gekommen zu sein.

ausgeschwemmt werden; er schlägt für sie die Benennung „Hämokonien" vor. Aus denselben Gründen betrachtet Neumann die von Wiener vertretene Auffassung betreffs des Vorkommens der Partikel im Serum als widerlegt. Nach letzterem sollten nämlich die Partikel, wenn auch unter verschiedenen Umständen in verschiedener Menge, so doch konstant im Serum vorkommen, und somit nicht in so intimer Beziehung zu den Mahlzeiten und zu dem Fettgehalt der Nahrung stehen wie Neumann geltend machen wollte. Über die Natur der Partikel im übrigen äußert sich Wiener dagegen nicht.

Spätere Untersuchungen als die oben referierten, liegen, soweit ich finden konnte, über diese Fragen nicht vor, was um so auffälliger ist, als die gerade in der letzten Zeit in so hohem Grade verbesserten optischen Hilfsmittel geeignet scheinen, dem Untersucher über die Schwierigkeiten hinwegzuhelfen, die durch die älteren weniger leistungsfähigen optischen Instrumente nicht zu überwinden waren. Noch im Jahre 1920 finden wir, daß Wolfgang Ostwald seine Angabe über die optische Leere des Serums auf die oben referierte, 1911 publizierte Arbeit von Bottazzi stützt.

Bei ultramikroskopischen Studien über gewisse Formen der spezifischen Hämolyse, die ich vorgenommen, hat eine Reihe von Beobachtungen, die ich dabei gemacht, und auf die später die Sprache kommen soll, meine Aufmerksamkeit immer mehr auf die Frage der optisch-physikalischen Eigenschaften des Serums gelenkt. Es war erst notwendig, diese Eigenschaften klarzustellen, bevor eine Deutung dieser Beobachtungen erreicht werden konnte. Schon bevor ich die oben zitierten Arbeiten von Neumann und von Bottazzi kannte, war ich zu einer Auffassung über diese Frage gelangt, welche nicht mit der von den genannten Verfassern vertretenen übereinstimmte. Vielmehr schienen viele Umstände, auf die ich später zurückkommen werde, dafür zu sprechen, daß die Partikel konstant im Serum[1]) vorkommen; daß sie wahrscheinlich nicht lipoider Natur sind und daß gewisse serologische Fragen in intimer und direkter Beziehung zur Existenz der Partikel und ganz besonders zu ihrer physikalischen Beschaffenheit stehen. Ein näheres Studium der Frage schien deshalb von Interesse zu sein, und ich möchte hier einen kurzen Bericht über das Resultat desselben erstatten.

Die Technik, deren ich mich bei diesen Untersuchungen bediente, war in der Hauptsache die von Bechhold beim Studium der Hämolyse angewandte. Die optische Ausrüstung bestand in Zeiß Kardioidkondensor, Zeiß Objektiv X, Komp.-Okular 18, Lichtquelle von größter Lichtstärke (selbstregulierende Bogenlampe von Körting & Mathiesen).

Die Blutproben wurden mit paraffinierten[2]) Kanülen (und evtl. in paraffinierte Gefäße) in sterile Röhrchen aus der Cubitalvene genommen. Das Blut ließ ich entweder bei Zimmertemperatur oder bei 37° koagu-

[1]) Hier und im folgenden ist, soferne nichts anderes angegeben ist, Menschenserum resp. Plasma gemeint.

[2]) Später habe ich von dieser Vorsichtsmaßregel abgesehen, da ein Unterschied zwischen dem Resultat mit resp. ohne dieselbe nicht nachweisbar war.

lieren, gewöhnlich bei letzterer Temperatur, aus Gründen, auf die unten näher eingegangen werden soll. Die Untersuchung wurde sofort vorgenommen, sowie das Serum sich hinreichend abgesetzt hatte, wobei das Serum mittelst wohlgereinigter Pasteurpipetten abpipettiert wurde. Darauf wurde ein Tropfen des Serums auf ein gleichfalls sorgfältig gereinigtes Objektglas gebracht (Chromatschwefelsäure-Seidenpapier). und ein ebenso gereinigtes Deckglas daraufgelegt; oder die Untersuchungsprobe wurde in eine wohlgereinigte Quarzkammer gebracht.

Eigene Untersuchungen.

I. Enthält das Blutserum resp. Plasma, unabhängig von einer durch den Darm erfolgten Fettresorption, ultramikroskopisch beobachtbare Partikel?

Um darüber zur Klarheit zu kommen, sind 83 Serumproben, die bei nüchternem Magen entnommen waren, untersucht worden. Davon sind 34 von Patienten genommen, die an verschiedenen organischen Krankheiten litten, 23 Serumproben wurden von 2 Luetikern, die an paroxysmaler Hämoglobinurie litten, im Laufe eines längeren Zeitraums zu verschiedenen Zeitpunkten genommen; die übrigen 26 Proben stammen von gesunden Individuen oder von Patienten, die nur ein funktionelles Leiden hatten. Sämtliche Proben wurden, wie bereits erwähnt, bei nüchternem Magen genommen. Außerdem wurde bei einer Reihe von Fällen die weitere Vorsichtsmaßregel angewendet, daß die Versuchspersonen am Abend vor Entnahme der Probe nur eine ganz kleine und möglichst fettarme Nahrung einnahmen. In 3 Fällen konnte dieses Prinzip noch strenger durchgeführt werden, da es sich um Patienten mit blutendem Ulcus ventriculi handelte, die seit einem oder mehreren Tagen bei äußerst eingeschränkter Kost gehalten waren.

Es zeigte sich, daß sämtliche untersuchten Sera ultramikroskopisch beobachtbare Submikronen enthielten. Diese wechseln nach Menge und Größe bei den verschiedenen Proben in hohem Grade. Gewöhnlich bietet das Feld folgendes Bild: Mäßig viele oder spärlichere, größere, deutlich hervortretende und abgrenzbare Partikelchen mit ziemlich lebhafter Brownscher Bewegung, die in ihrer Beweglichkeit eine gewisse Unregelmäßigkeit zeigen, wie tanzende, pendelnde, stabförmige Gebilde (Typ. I). Kleinere Partikelchen mit äußerst lebhafter und regelmäßiger Bewegung in reichlicherer Menge, die sich ultramikroskopisch wie kleine gleichmäßig gerundete Gebilde ausnehmen (Typ. II); endlich eine nur bei günstigster Beleuchtung und Einstellung sichtbar werdende Wolke anscheinend staubfeiner, nicht deutlich unterscheidbarer Partikelchen (Typ. III). Das hier skizzierte Bild kann jedoch in verschiedenen Fällen bedeutend variieren; so treten in einer Reihe von Fällen Partikelchen vom Typ. I besonders reichlich auf; in manchen Proben dagegen war das Gesichtsfeld ultra-

mikroskopisch beinahe schwarz, mit nur spärlichen, lebhaft beweglichen Partikelchen.

Die Partikel sind im Gesichtsfeld gleichmäßig verteilt; bewahren auch während einer länger dauernden Beobachtungszeit (4—5 Min.) ihre Beweglichkeit unverändert; zeigen keine Aggregation oder Sedimentierung. Erst sobald das Präparat begonnen einzutrocknen, verlieren sie ihre Beweglichkeit und haften auf der Objektglasfläche.

Eine Beurteilung der Größe läßt sich aus verschiedenen Gründen sehr schwer vornehmen. Versuchen wir eine solche auf Grund der Beweglichkeit der Partikelchen, so würde man nach Zsigmondys Vorgang[1]) ungefähr zu folgenden Werten kommen:

Für Typ. I: Kleiner als 100 $\mu\mu$.
„ „ II und III: 25—50 $\mu\mu$.

Es braucht kaum hervorgehoben zu werden, daß diese Einteilung nur ganz schematisch ist. Es kommen wohl Übergangsgrößen in allen Abstufungen vor, so daß eine richtige systematische Abgrenzung von verschiedenen Dispersitätsgraden sich in Wirklichkeit kaum durchführen läßt.

In manchen Fällen wurden die Blutproben bei 37° C, in anderen bei Zimmertemperatur gewonnen und aufbewahrt, bis das Serum sich abgeschieden hatte. Ein sicherer Unterschied zwischen den optischen Bildern in einem oder dem anderen Fall hat sich im allgemeinen nicht konstatieren lassen. Nur bei Proben von paroxysmaler Hämoglobinurie[1]) dürfte ein solcher nachweisbar sein.

In einer Reihe von Fällen wurden gleichzeitig mit den Serum- auch Plasmaproben untersucht, wobei als koagulationsverhindernder Zusatz Oxalat-, Citrat-, Fluornatrium- oder Hirudinlösung angewendet wurde. Die Hauptbestandteile des ultramikroskopischen Bildes werden hier nicht selten durch mehr minder reichlich auftretende, größere oder kleinere, körnige Klumpen gebildet, mitunter bis zur Größe von Blutkörperchen, von rosenkranzähnlichen Gebilden (Fibrin) usw.[2]). Die im Serum vorkommenden Partikel finden sich indes auch in den Plasma-

[1]) Vgl. hierüber Hygiea Juli 1921.

[2]) Dieses Verhalten scheint mir von einem gewissen Interesse zu sein Es zeigt sich nämlich, daß die fraglichen Bildungen in verschiedenen Fällen in ungleicher Menge und Größe auftreten können. Die Behandlung der Proben, die Art, in der die Koagulation verhindert wurde usw., scheint dabei von Bedeutung zu sein. Da nun von Sachs und v. Oettingen vorgeschlagen worden ist, das Verhalten des Plasmas bei Wärmebehandlung (die entstehende Ausflockung usw.) als Maßstab für die Stabilität der Plasmakolloide zu nehmen, scheint es mir von vornherein wahrscheinlich, daß dabei auf den physikalischen Ausgangsstatus der untersuchten Probe Rücksicht genommen werden muß und daß, damit die vorgeschlagene Stabilitätsprobe in verschiedenen Fällen vergleichbare Resultate geben kann, auch die Entnahme der Probe usw. durchwegs auf eine bis ins Detail übereinstimmende Weise geschehen muß.

proben, und zwar, nach summarischer Schätzung, in ungefähr gleicher Menge und von derselben Beschaffenheit.

Eine der Stützen Neumanns für seine Annahme, daß das Serum, abgesehen von den Veränderungen nach einer fetthaltigen Mahlzeit, optisch leer sei, war, wie wir oben sahen, der Umstand, daß, nach Neumann, das Serum von Pflanzenfressern immer optisch leer sein sollte. Ich habe an 9 Meerschweinchen und 4 Kaninchen versucht, diese Angabe Neumanns zu verifizieren. Es zeigte sich indes, daß sämtliche Kaninchensera und 8 von den Meerschweinchenseris äußerst reichlich Partikelchen enthielten, deren Größe sich nach ihrer Bewegung zu urteilen, im allgemeinen zwischen Typ. II und III halten dürfte. Bei manchen von den untersuchten Meerschweinchen fanden sich indes auch reichlich größere Partikel, die am ehesten denen des Typ. I gleichzustellen waren. Nur eines dieser 13 Sera zeigte sich so gut wie optisch leer; darauf soll später die Sprache kommen.

Aus dem angeführten geht hervor, daß Menschen-, Kaninchen- und Meerschweinchenserum, ebenso wie menschliches Plasma, unabhängig von der Zufuhr fetthaltiger Nahrung (oder überhaupt von der Zufuhr von Nahrung) mehr oder weniger reichlich Submikronen enthält, die mit der verwendeten optischen Ausrüstung ohne Schwierigkeit beobachtet und eingehend studiert werden können. Weiterhin, daß diese ultramikroskopisch beobachtbaren Partikel sich in frisch untersuchten Proben als mehr oder minder lebhaft bewegliche Monopartikel zeigen, welche sich in der Untersuchungsflüssigkeit längere Zeit stabil erhalten, nicht aggregieren oder sedimentieren, sondern ihre freie Beweglichkeit in dem Flüssigkeitsmedium bewahren. Dies gilt also für Serum, resp. Plasma, ob es nun mit oder ohne Beobachtung der früher angeführten Vorsichtsmaßregeln gewonnen sei. Inwieferne es auch für die Verhältnisse in vivo, für das in den Gefäßen zirkulierende Blut gilt, kann daraus wohl nicht geschlossen werden. Daß es sich wahrscheinlich ebenso verhält, kann man wohl annehmen. Würde der physikalische Zustand sich erst in vitro ändern, so würde die Veränderung wohl sehr wahrscheinlich während der Aufbewahrung, oder wenn die Probe ohne Beachtung der Kautelen entnommen würde, usw., zunehmen. So verhält es sich aber nicht (oder nur in Ausnahmefällen, vgl. oben).

II. Wie verhält sich das Serum optisch nach Verabreichung fetthaltiger Nahrung?

Zur Beantwortung dieser Frage habe ich folgenden Selbstversuch ausgeführt: Nach Entnahme der Blutprobe bei nüchternem Magen wurde eine fettreiche Mahlzeit eingenommen, bestehend aus 100 g Butter, 150 g Speck, Milch usw. Darauf wurden $^1/_2$ resp. 1, $1^1/_2$, 2, 3, 4 und 7 Stunden nach der Mahlzeit Blutproben entnommen. Es zeigte sich

dabei, daß die $1^1/_2$ Stunde nach der Mahlzeit genommene Probe sich ultramikroskopisch nicht von jener bei nüchternem Magen unterschied, in den folgenden aber eine augenfällige Veränderung eintritt. Es treten größere und ziemlich stark leuchtende Partikel auf, mit mäßig lebhafter Bewegung, nicht so deutlich abgrenzbar wie die konstant vorkommenden (von Typ. I und II), sondern gleichsam von einem mehr diffusen Strahlenkranz umgeben. In der Probe nach 2 Stunden kommen dieselben reichlich vor, in der Probe nach 4 Stunden etwas spärlicher, in der Probe nach 7 Stunden sind sie wieder ganz verschwunden. Es dürfte wohl kaum einem Zweifel unterliegen, daß es gerade diese Partikel sind, die von Neumann beschrieben wurden, während die weniger stark leuchtenden und minder auffälligen, unabhängig von Mahlzeit und Fettzufuhr im Serum vorkommenden Partikel von ihm übersehen wurden, wahrscheinlich infolge der schlechteren optischen Ausrüstung, die zur Zeit der Ausführung seiner Untersuchung zu Gebote stand.

In einem zweiten Selbstversuch wurde dieselbe Serienuntersuchung nach Genuß einer im wesentlichen fettfreien Mahlzeit gemacht. Dabei blieben die im vorigen Fall eingetretenen Veränderungen des optischen Bildes vollständig aus.

Das oben angeführte verifiziert also die von Neumann gemachten Angaben, insoweit sie sich auf den Einfluß fetthaltiger Kost auf die optische Beschaffenheit des Serums beziehen.

III. Können wir ultramikroskopisch die chemische Beschaffenheit der konstant im Serum vorkommenden Partikel bestimmen?

Durch Extraktion mit Äther konnte Neumann die nach fetthaltiger Mahlzeit im Serum auftretenden Submikronen ganz zum Verschwinden bringen. Die dabei angewendete Technik wird von Neumann nicht näher angegeben. Ob aber der Schlußsatz, den Neumann auf diesen Versuch aufbaut, daß nämlich die fraglichen Partikel von lipoider Natur seien, ohne weiteres haltbar ist, ist wohl nicht so sicher. Es ist nämlich nicht untersucht, welchen Einfluß das Mischen oder Schütteln mit Äther an und für sich auf ein so kompliziert zusammengesetztes kolloides System, wie es das Serum ist, ausüben kann. Ferner dürfte man wohl annehmen, daß grobdisperse, im Serum vorhandene lipoide Partikel nach bekannten Gesetzen von einer Eiweißhülle[1]) umgeben sind und daß also diese lipoiden Substanzen nicht ohne weiteres ätherextrahierbar sein müssen.

Wie verhalten sich die konstant im Serum vorkommenden Submikronen bei der Ätherextraktion?

[1]) Vgl. darüber Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin, II. Aufl., S. 37 u. 377.

Äther und Serum wurden aa partes im Separiertrichter gemischt. Nach wiederholtem Umschütteln ließ man die Flüssigkeiten sich schichten, worauf das Serum abgelassen und untersucht wurde. Bei einigen Versuchen wurde dem abpipettierten Serum eine neue Portion Äther zugesetzt und der Prozeß wiederholt. Derart behandeltes Serum zeigte bei der ultramikroskopischen Untersuchung äußerst ungünstige Verhältnisse für die Beobachtung. Das Gesichtsfeld wird stellenweise von Flecken einer grauweißen „Haut" bedeckt; dieselbe flottiert offenbar in der Flüssigkeit, denn man kann Submikronen beobachten, die auf derselben tanzen[1]), und in den „Lücken" der Haut sieht man gelegentlich Submikronen ringsum an den Rändern der „Haut" auftauchen[2]). Wir können also aus diesem Versuch nur erschließen, daß auch weiter Submikronen vorhanden sind, auch nach der Ätherextraktion. Die Mengenverhältnisse lassen sich jedoch nicht überblicken.

Ein Versuch, der mir für die Beantwortung der gestellten Frage von größerem Wert erscheint, ist folgender. Wenn man davon ausgeht, daß die Partikel vielleicht nicht lipoider Natur sind, liegt es nahe, an die Möglichkeit zu denken, daß sie ihrer chemischen Zusammensetzung nach aus Eiweißsubstanzen bestehen. Dabei drängt sich zunächst natürlich die Vermutung auf, daß es sich um Globulinfraktionen handle. Durch mehrere Untersuchungen[3]) wissen wir, daß sich eine Globulinlösung in gewisser Hinsicht äußerst charakteristisch verhält: Bei Verdünnung mit destilliertem Wasser werden die Globuline ausgefällt. Setzt man nachher Neutralsalz hinzu, so geht die Veränderung zurück.

Verdünnen wir nun ein Serum, das mehr weniger reichlich Ultramikronen enthält, mit Aqua destillata, so zeigt es sich, daß die Submikronen oft schon bei einer Verdünnung 1 : 1 an Zahl und Größe zunehmen, sowie — häufig erst bei weiterem Wasserzusatz — in immer größerem Ausmaß aggregieren. Die Aggregierung kann schließlich so vollständig werden, daß die Grundflüssigkeit zwischen den Aggregaten ganz optisch leer wird. Schütteln wir eine solche Serum-Wassermischung, die die Aggregate enthält, so lösen sich dieselben ganz oder teilweise. Betrachten wir eine unmittelbar nach dem Umschütteln genommene Probe ultramikroskopisch, so können wir sehen, wie die beim Umschütteln zersplitterten Aggregate sich ziemlich rasch wieder bilden. Durch die Wasserverdünnung erreichen wir also eine Teilchenentladung und wahrscheinlich gleichzeitig eine Dispersitätsverminderung sowohl

[1]) Schwächer hervortretend als früher, wohl wegen des lichteren Hintergrundes.

[2]) Es dürfte sich hier wahrscheinlich um eine Emulsionsbildung handeln. Wie bekannt tritt häufig eine solche bei Ausschütteln von Reaktionsgemischen mit Äther, Benzol usw. ein, die sich sehr schwer trennen (vgl. Bechhold, l. c., S. 37).

[3]) Vgl. hierüber u. a. Zsigmondy (S. 352—353); Wo. Pauli, L. Michaelis (ref. bei Zsigmondy).

der vorher sichtbaren Submikronen als auch der früher nicht oder wenig optisch hervortretenden Körnchen. Die eintretende physikalische Veränderung resultiert in der Aggregatbildung.

Wie verhalten sich nun diese bei Verdünnung des Serums mit Wasser auftretenden Aggregate bei Zusatz von Neutralsalz?

Setzt man einer derartigen Probe NaCl in Mengen bis zur ursprünglichen Konzentration zu (zu 8,7—9‰ berechnet), so tritt rasch eine Desaggregation mit Dispersitätsvermehrung der Partikel ein. Nach Zusatz von Salz bis zur ursprünglichen Konzentration sieht die Probe ultramikroskopisch genau wie vor der Verdünnung aus. Lassen wir die Probe eine Weile stehen, und untersuchen nochmals, so finden wir sie unverändert. Das heißt also: Wir erreichen durch Kochsalzzusatz eine optische Restitutio ad integrum, und zwar eine bestehenbleibende.

Noch ein Umstand wäre hier zu erwähnen. Die im Serum normal vorkommenden Submikronen sind ultramikroskopisch als mehr oder minder stark leuchtende Partikel sichtbar. Sie sind gleichsam in eine dünne „Glanzsphäre" eingehüllt; bei Verdünnung mit Wasser fällt dieselbe fort und die Partikel nehmen sich mehr wie kreideweiße, runde, deutlich begrenzte Punkte aus. Wird die Probe geschüttelt und der Zusammenhang der Aggregate dadurch gesprengt, so wird das Gesichtsfeld voll derartiger „Punkte", die sich rasch wieder zusammenfinden und wieder Aggregate bilden. Anders bei Kochsalzzusatz. Die dabei freigemachten Partikel erhalten wieder ihre Hülle, werden leuchtend, mit einem Wort, sie bekommen wieder ihr ursprüngliches Aussehen.

Das hier geschilderte Verhalten zeigt somit, daß wir im Serum ein empfindliches, in seinem Anfangsstadium ultramikroskopisch gut beobachtbares kolloides System haben, daß bei Wasserverdünnung resp. NaCl-Zusatz verändert und wiederhergestellt werden kann, und das sich somit wie eine Globulinlösung verhält. Normalerweise kann nur der grobdisperse Teil dieses Systems ultramikroskopisch beobachtet werden, und gerade dieser Teil besteht offenbar aus den oben näher geschilderten, im Serum konstant vorkommenden Submikronen, die wir mithin wohl berechtigt sind, als Globuline aufzufassen.

IV. Können wir aus dem Vorhandensein der Submikronen im Serum, resp. aus ihrer Menge und Beschaffenheit irgendwelche Schlußsätze ziehen?

Diese Frage kann natürlich erst nach ungemein umfassenden Untersuchungen befriedigend beantwortet werden. Ich will hier nur über einige gelegentliche Befunde berichten, die ich während dieser und anderer gleichzeitiger Untersuchungen erhoben habe. Ich gehe hier auch nicht auf das besonders interessante Verhalten der Submikronen bei gewissen Formen von Hämolyse ein[1]).

[1]) Ein Bericht darüber soll in einer Arbeit über die paroxysmale Hämoglobinurie erscheinen, die binnen kurzem zur Publikation gelangt.

1. Inaktivieren wir (55 , $^1/_2$ Stunde) ein Serum, das reichlich Submikronen enthält, so finden wir, daß dieselben sich zu Aggregaten zusammenballen. Inaktivieren wir bei einer niedrigeren Temperatur, oder bei derselben Temperatur durch kürzere Zeit, so finden wir, daß die entstehenden Aggregate kleiner aber zahlreicher werden. Diese bei Wärmebehandlung des Serums entstehenden Aggregate unterscheiden sich in wesentlichen Punkten von jenen, die wir bei Verdünnung mit Wasser entstehen sahen. Bei letzterer verändern die Partikel ihr Aussehen, machen den Eindruck einer gefällten Substanz, verlieren ihre leuchtende Sphäre, werden kreideweiß, und scharf abgegrenzt. Die Aggregate können durch Schütteln vorübergehend, durch NaCl-Zusatz dauernd gesprengt werden.

Die Aggregate, die sich bei Wärmebehandlung bilden, verhalten sich in diesen Punkten ganz anders. Die sich vereinigenden Partikel behalten hier ihr ursprüngliches Aussehen; man sieht die das Aggregat bildenden Partikel in demselben liegen, nicht, wie nach Wasserverdünnung, stark zusammengepreßt, nicht „Rand an Rand", sondern gewissermaßen durch ihre Strahlenhülle voneinander geschieden. Wird die wärmebehandelte Probe geschüttelt, so tritt keine Veränderung ein. Die Aggregate bestehen unverändert fort. Wird NaCl zugesetzt, so bleibt das Resultat das gleiche. Die Aggregate bleiben bestehen. Nur durch Behandlung mit komplementhaltigem Serum tritt, wenigstens in gewissen Fällen, eine Desaggregation mit Restitutio in integrum ein[1]). Die Komplementzufuhr scheint hier also analog dem NaCl-Zusatz zum wasserverdünnten Serum wirken zu können.

Läßt man ein Serum z. B. bei Zimmertemperatur oder Eisschranktemperatur längere Zeit stehen, so verschwindet wie bekannt nach einer gewissen, in verschiedenen Fällen verschieden langen Zeit, die Komplementfunktion des Serums. Untersuchen wir gleichzeitig mit der Komplementbestimmung Stichproben ultramikroskopisch, so finden wir eine langsam eintretende Aggregatbildung, wenn auch die Aggregate vielleicht nie dieselbe Größe erreichen wie bei der Wärmeinaktivierung.

2. Von Mandelbaum ist gezeigt worden, daß im Gegensatz zu abpipettiertem Serum, das bei Aufbewahrung bei 37° rasch seine Komplementfunktion verliert, Serum, das bei der gleichen Temperatur auf seinem eigenen Blutkuchen aufbewahrt wird, seine Komplementfunktion bedeutend länger beibehält. Ich habe dies wiederholte Male nachgeprüft und fand den Unterschied zwischen dem einen und dem anderen Verhalten frappant. Untersuchen wir nun zwei auf diese Weise aufbewahrte Serumproben in rascher Folge und machen gleichzeitig Komplementbestimmungen, so zeigt sich folgendes: Die Submikronen

[1]) Über gewisse Abweichungen, die von diesem Verhalten vorkommen, soll in anderem Zusammenhange berichtet werden.

des abpipettierten Serums beginnen ungefähr gleichzeitig mit dem Heruntergehen des Komplementtiters resp. mit dem Verschwinden der Komplementfunktion sich zu immer größeren Aggregaten zusammenzuschließen. Wenn diese eine gewisse Größe erreicht haben, hört die Veränderung auf. Parallel genommene Stichproben von dem Serum, das auf seinem Blutkuchen aufbewahrt wurde, verhalten sich dabei ganz anders. Noch nachdem die maximalen Aggregate in der ersteren Probe gebildet worden und ihre Komplementfunktion aufgehört hat, ist das letztere Serum ultramikroskopisch unverändert: Es enthält weiter nur freibewegliche Monopartikel im Gesichtsfeld ohne Tendenz zur Aggregierung.

3. Meerschweinchenserum ist bekanntlich das Serum, das am reichlichsten und konstantesten Komplement enthält, während es sich u. a. nach Sachs gleichzeitig durch besonders labile Globuline auszeichnen soll. Bei den Untersuchungen, über die oben berichtet worden, zeigte es sich, daß die untersuchten Meerschweinchensera reichlich Submikronen enthielten. Ebenso zeigte es sich beim Wasser-NaCl-Versuch besonders empfindlich. In einem Meerschweinchenserum fehlten, wie erwähnt, die Submikronen so gut wie ganz; dasselbe war zur Verwendung bei WaR. bestimmt gewesen, mußte aber wegen fehlender Komplementfunktion kassiert werden.

Ich will mich hier nicht länger bei dem Bericht über mehrere andere ähnliche Beobachtungen aufhalten. Es geht indes aus dem oben Gesagten hervor, daß wir in dem Vorkommen und der Beschaffenheit der Serumsubmikronen gewissermaßen ein Spiegelbild der Komplementfunktion des Serums sehen können. Ob es sich konstant so verhält oder nicht, darauf kann ich vielleicht in einem späteren Aufsatz zurückkommen. Wenn die normalerweise vorhandenen Submikronen aus Globulinen bestehen, wie oben angenommen worden, würde es allerdings kaum überraschend sein, wenn es sich zeigen würde, daß wir aus dem qualitativen und quantitativen Verhalten dieser Submikronen eine Vorstellung von der Komplementfunktion des Serums erhalten könnten. Neuere Forschungen darüber machen es ja in der Tat wahrscheinlich, daß die Komplementfunktion intim an die Globuline (oder gewisse Globulinfraktionen) gebunden, und zwar besonders von der physikalischen Beschaffenheit derselben abhängig ist.

Von Interesse dürfte es schließlich auch sein, das ultramikroskopische Bild parallel mit einer Reihe neuerer physikalisch-chemischer Untersuchungsmethoden zu verfolgen. So dürfte es als wahrscheinlich betrachtet werden können, daß nicht nur die absolut quantitative, im Serum vorhandene Menge von gewissen Substanzen (Fibrinogen, Globulin) ausschlaggebend für die Sedimentierungsprobe von Fåhraeus ist; wahrscheinlich ist gerade der physikalische Zustand, in dem sich

diese Substanzen befinden, dabei von großer, vielleicht dominierender Bedeutung. Tatsächlich spricht eine Reihe der von Fåhraeus ausgeführten Versuche dafür, daß es sich so verhält, so z. B. die geänderte Fallgeschwindigkeit, die bei der Wärmebehandlung des Serums, resp. des Plasmas, eintritt, usw. Eingehendere Versuche darüber sind indes bis jetzt noch nicht ausgeführt worden.

Literatur.

Bechhold, H., Die Kolloide in Biologie und Medizin, II. Aufl., 1919, S. 37 u. 377. — Bechhold, H. und Kraus, diese Zeitschr. **109**. 1920. — Bottazzi, F., Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie 1911, Bd. I. — Cesana, G., Arch. di fisiol. **4**. 1907; ref. in Wintersteins Handbuch Bd. I. — Fåhraeus, R., Acta med. scandinav. 1921. — Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1916, Nr. 29. — Mayer, A., Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **63**, 553. 1907. — Mayer, A. et Schaeffer, G., Ebenda **64**, Nr. 14. 1908. — Neumann, Wien. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 28. — Neumann, Wien. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 27. — Ostwald, Wo. v., Die Welt der vernachlässigten Dimensionen, 4. Aufl., 1920, S. 40 u. 187. — Pauli, Wo., Vgl. H. Schade, Med. Klin. 1909, Nr. 29 u. 30. — Sachs, H., Berl. klin. Wochenschr. 1916, S. 1384. — Sachs, H. und v. Oettingen, Münch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 12. — Wiener, Wien. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 25. — Zsigmondy, Kolloidchemie, III. Aufl., 1920.

Die Alkalireserve der Nierenkranken.

Von

H. Straub und Klothilde Meier.

(Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München und aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 24. August 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die vor allem durch die experimentellen Untersuchungen Schlayers und seiner Mitarbeiter angebahnte Erkenntnis, daß grundsätzliche Fortschritte in der Klinik der Nierenkrankheiten in erster Linie durch eine funktionell physiologische Betrachtungsweise erstrebt werden müssen, hat gerade in der letzten Zeit wieder bedeutend an Boden gewonnen. Durch die Untersuchungen der letzten Jahre ist vor allem der rein klinische Begriff der Niereninsuffizienz in ungeahnter Weise belebt worden. Der wohl früher einmal vertretene Standpunkt, daß die Höhe des Reststickstoffes der einzig rationelle Maßstab der Niereninsuffizienz sei, allenfalls unter Berücksichtigung der mit der Nahrung zugeführten Stickstoffmengen, ist längst überholt. Die Hauptmasse des Reststickstoffes, der Harnstoff, spielt sicher für das Zustandekommen der klinischen Krankheitserscheinungen nicht die Rolle, die man ihm zuzuweisen ursprünglich geneigt war. Ob das eine oder andere klinische Symptom auf die Anhäufung anderer bekannter stickstoffhaltiger Stoffwechselend- oder Zwischenprodukte zurückzuführen ist, wissen wir nicht. Sicher ist nur, daß regelmäßig zugleich mit dem Anstieg des Reststickstoffes über einen bestimmten Wert das Leben endet. Wie weit dieses zeitliche Zusammenfallen im Verhältnis von Ursache und Wirkung steht, ist unbekannt. Abgesehen vom Stickstoff hat seit langem die Retention von Chlorionen, die Chlorür-ämie Widals, eine nicht nur diagnostisch, sondern vor allem auch therapeutisch wichtige Rolle gespielt. Dazu ist neuerdings der Nachweis von der Vermehrung des säurelöslichen Phosphors gekommen, dessen wichtigster Bestandteil die anorganische Phosphorsäure bildet. Neben der Störung des Mineralstoffwechsels konnte die des Wasserwechsels durch Bestimmung des Serumeiweißes und der Zahl der körperlichen Elemente einerseits, durch

den Wasser- und Konzentrationsversuch, sowie durch die Belastungs- und Entlastungsmahlzeit von Schlayer, Hedinger und Beckmann andererseits weitgehend geklärt werden. Der Begriff der Niereninsuffizienz löst sich damit in eine große Anzahl von Teilfunktionen auf, von denen jede anscheinend bis zu einem gewissen Grade unabhängig von der anderen gestört sein kann. Den Grad der Störung dieser Teilfunktionen in jedem einzelnen Falle festzustellen, ist für die Behandlung von allergrößter Bedeutung. Denn diese kann vielfach nur in Schonung der gestörten Funktionen bestehen. Wie weit das Zustandsbild der gestörten Teilfunktion der Niere durch eine Erkrankung der Niere selbst oder gar des einen oder anderen sezernierenden Bestandteiles der Niere hervorgerufen wird, ist dann immer noch eine Frage, die getrennt von der bisher gestellten in Angriff genommen werden muß.

Unter den Störungen des Mineralstoffwechsels der Nierenkranken hat schon seit langem das Verhalten des Bicarbonat-Ions besonderes Interesse beansprucht.

Seit den Untersuchungen von Walter[1]) steht dieses in engsten Beziehungen zu dem Problem der Acidose. Walter benützte den absoluten Kohlensäuregehalt des Arterienblutes als relativen Maßstab für den Alkaligehalt. Wurde Kaninchen mehr als 0,7—0,8 g HCl pro kg Körpergewicht stomachal einverleibt, so trat eine tödlich endende Säurevergiftung auf. Zuerst kam es zu Steigerung der Atemfrequenz, dann wurden die einzelnen Atembewegungen tiefer, mühsamer unter heftigem Flankenschlagen. Das Tier verlor die Fähigkeit, sich frei fortzubewegen und verharrte ruhig in seiner Lage. Von da ab verging bis zum Tode noch etwa $^1/_4$ Stunde. Während dieser Zeit verschwand der dyspnöische Charakter der Atmung, die Herzaktion war kaum wahrnehmbar, das Tier kollabierte, der zur Erde gesunkene Kopf konnte nicht mehr gehoben werden, die oberflächlich und schwach gewordenen Atemzüge sistierten. Der gleichzeitig im Carotisblute bestimmte Kohlensäureprozentgehalt ergab beim Normaltiere 24—28 Vol.-%, während er auf der Höhe der Säurevergiftung auf 16,4, 11,2, 8,8, ja auf 2,5 bis 2,9 Vol.-% gefallen war. Walter schloß aus diesen Versuchen, daß infolge der Alkaliverminderung im Blute zuerst eine Reizung und dann eine Lähmung des Atemzentrums sich einstellt. Die Beobachtungen Walters und vor allem die Technik der Kohlensäurebestimmung im arteriellen Blute können auch den strengsten modernen Anforderungen vollauf genügen. Dem von Walter geschilderten Bilde der Säurevergiftung ist seitdem kein wesentlicher neuer Gesichtspunkt hinzuzufügen.

Diesen Versuchen von Walter entsprechend wurde das Wesen der Säurevergiftung, für die der klinische Begriff der Acidose geprägt wurde, von Naunyn in dem Auftreten nichtflüchtiger Säuren gesehen, die der Kohlensäure Alkali wegnehmen und dadurch Kohlensäure aus dem Blute verdrängen. Als Indikator für die Verminderung des Alkaligehaltes diente der Kohlensäuregehalt des arteriellen Blutes. Daß die Bestimmungen im Arterienblute ausgeführt werden, ist durchaus wesentlich und von allem Anfange an richtig erkannt worden. Nach diesen Grundsätzen hat Minkowski[2]) bei Hunden die Herabsetzung des Kohlensäuregehaltes im Arterienblute bei septischem Fieber und bei Überhitzung nachgewiesen. Vor

[1]) F. Walter, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **7**, 148. 1877.

[2]) O. Minkowski, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **19**, 209. 1885.

allem aber hat er[1]) bei einem Diabetiker mit Acidose in Vorwegnahme einer erst ganz neuerdings wieder modern gewordenen Untersuchungsmethode in dem aus der Arteria radialis entnommenen Blute eine Herabsetzung des Kohlensäureprozentgehaltes auf 17,04% und bei demselben im Koma bis auf 3,34% gefunden.

Die Ähnlichkeit mancher Krankheitserscheinungen, die zum Symptomenbilde der Urämie gehören, mit den von Walter bei der Säurevergiftung des Kaninchens beobachteten und mit ähnlichen Symptomen des Coma diabeticum legten den Gedanken nahe, auch bei der Urämie könnten ähnliche Ursachen für diese Erscheinungen in Betracht kommen. Man sprach deshalb von Säurevergiftung bei Urämie. Daß eine solche bestehen könne, schien zuerst aus den Beobachtungen von Jakschs[2]) hervorzugehen, der eine starke Verminderung der Titrationsalkalinität des Blutes bei der Urämie nachwies. Dieser von mehreren Seiten bestätigte Befund konnte aber nicht als eindeutiger Beweis gelten, weil er im Venenblute erhoben war und weil die Technik der einfachen Titration in stark gepufferten Lösungen, wie dem Blute, keine eindeutigen Ergebnisse liefert.

Erst auf Grund moderner physikalisch-chemischer Vorstellungen über das Verhalten der Kohlensäure im strömenden Blute und über den Mechanismus der Atmungsregulation konnte das Problem erneut in Angriff genommen werden. Der adäquate Reiz für das Atemzentrum ist die Kohlensäurespannung des arteriellen Blutes [Zuntz und Löwy, Haldane und seine Mitarbeiter[3])]. Unter der Einwirkung der Kohlensäurespannung des Arterienblutes regelt die Atmung die Ventilationsgröße so, daß die Kohlensäurespannung der Alveolarluft und damit die des arteriellen Blutes [Krogh[4])] konstant gehalten wird. Die Untersuchungen von Walter[5]) und Lehmann[6]) mit Säureinjektion, von Geppert und Zuntz[7]), von A. Löwy[8]) u. a. bei der Sauerstoffmangeldyspnöe hatten zu der Vorstellung geführt, daß außer der Kohlensäure auch andere Säuren reizend auf das Atemzentrum wirken. Diese Beobachtungen wurden dann von Winterstein[9], [10], [11]) in einer experimentell und rechnerisch faßbaren Form zusammengefaßt als „Reaktionstheorie" der Atmungsregulation, wonach weder der Sauerstoffmangel noch die Kohlensäurespannung als solche, sondern einzig und allein die Wasserstoffionenkonzentration des Blutes die chemische Regulierung der Atmung besorgen. Die Atmung hat demnach die Aufgabe, die Reaktion des Blutes konstant zu halten. Voraussetzung für die absolute Gültigkeit dieser Theorie ist, wie namentlich Hasselbalch[12]) hervorgehoben hat, eine konstante Erregbarkeit des Atemzentrums. Diese Voraussetzung ist, wie schon Walter hervorgehoben hat, im Endstadium der Säurevergiftung offenbar nicht mehr zutreffend. Auch durch Narkotica und viele andere Faktoren kann die Erregbarkeit des Atemzentrums verändert werden. Bei konstanter Erregbarkeit des Atemzentrums aber ist die Kohlensäurespannung

[1]) O. Minkowski, Naunyns Mitteil. aus der Med. Klinik zu Königsberg, 1888, S. 174.

[2]) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. **13**, 350. 1888.

[3]) J. S. Haldane und J. G. Priestley, Journ. of physiol. **32**, 226. 1905.

[4]) A. Krogh, Skandinav. Arch. f. Physiol. **23**, 179ff. u. 248. 1910.

[5]) F. Walter, a. a. O.

[6]) C. Lehmann, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 284. 1888.

[7]) Geppert und Zuntz, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 189. 1888.

[8]) A. Löwy, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 281. 1888.

[9]) H. Winterstein, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 45. 1911.

[10]) H. Winterstein, diese Zeitschr. **70**, 45. 1915.

[11]) H. Winterstein, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **187**, 293. 1921.

[12]) K. A. Hasselbalch, diese Zeitschr. **46**, 403. 1912 und K. A. Hasselbalch und Chr. Lundsgaard, Skandinav. Arch. f. Physiol. **27**, 13. 1912.

des arteriellen Blutes und der mit diesem im Spannungsgleichgewicht stehenden Alveolarluft ein eindeutiges Zeichen dafür, daß an Stelle der Kohlensäure andere das Atemzentrum reizende Stoffe im Blute kreisen, und das können nach unserer bisherigen Kenntnis nur nichtflüchtige Säureradikale sein.

Von diesen Überlegungen aus war der Nachweis, daß bei vielen Nierenkranken die Kohlensäurespannung der Alveolarluft, nach Haldanes Methode bestimmt, zum Teil sehr erheblich unter die Norm herabgesetzt ist[1]), der erste sichere Hinweis auf eine Störung des Blutgehaltes an fixen Säuren. Auch der zur selben Zeit von Porges, Leimdörfer und Markovici[2]) geführte Nachweis, daß die nach der Methode von Plesch mit dem venösen Blute des rechten Herzens künstlich in Spannungsgleichgewicht gesetzte Alveolarluft bei Nierenkranken eine Herabsetzung der Kohlensäurespannung aufweist, spricht in demselben Sinne. Freilich ist letzterer Beweis nicht eindeutig, weil die Analyse am Venenblute ausgeführt ist[3]). Dieselbe Änderung der Kohlensäurespannung des Venenblutes könnte auch durch Änderung der Zirkulationsgröße oder der Kohlensäurebildung in den Geweben hervorgerufen werden. Zu quantitativen Untersuchungen über die Tätigkeit des Atemzentrums ist die Methode von Porges, Leimdörfer und Markovici ungeeignet, weil die Kohlensäurespannung des Venenblutes, wie sich zeigen ließ[4]), der des Arterienblutes nicht parallel geht.

Die Untersuchungen der Kohlensäurespannung der Alveolarluft wurden aufs wertvollste ergänzt durch Untersuchungen des Blutes selbst. Bei zweien der Nierenkranken, bei denen zuerst die Herabsetzung der alveolaren Kohlensäurespannung gefunden worden war, ließ sich eine Veränderung der Sauerstoffbindungskurve des Blutes, eine Meionexie, nachweisen[5]), wie sie durch Säurezusatz zum Blute erzielt werden kann. Soweit bekannt, kann Meionexie der Sauerstoffdissoziationskurve auf keine andere Weise erhalten werden. Harnstoffzusatz jedenfalls ruft keine solche Veränderung hervor. Auch von Barcroft[6]) und von seinen früheren Mitarbeitern Poulton und Ryffel[7]) wurde dieser Befund einer Meionexie des Blutes bei Nierenkranken erhoben.

Daß die Aufgabe der Niere, das Gleichgewicht zwischen nichtflüchtigen Säuren und Basen im Blute aufrecht zu erhalten, bei vielen Nierenkranken versagt, ergibt sich weiter aus dem Ausfall der „Alkalitoleranzprobe" [Sellards[8]), Palmer[9]), Peabody[10])]. Gibt man Gesunden alle 2 Stunden je 5 g Natr. bicarbonic. per os, so wird spätestens nach der zweiten Gabe der Urin alkalisch gegen Lackmus. Bei Nierenkranken muß man bis zu 80 g Natr. bicarbonic. geben, ehe der Urin alkalisch wird. Bei solchen, bei denen bis zu 35, ja bis über 50 g erforderlich sind, ehe der Urin alkalisch wird, kann die alveolare Kohlensäurespannung auf normalen Werten gehalten werden. Offenbar sind unter diesen Verhältnissen nur bestimmte

---

[1]) H. Straub und C. Schlayer, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 11.

[2]) O. Porges und A. Leimdörfer, Wien. med. Wochenschr. 1911, S. 786 und Zeitschr. f. klin. Med. **77**, 464. 1913.

[3]) Vgl. H. Straub, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **109**, 223. 1913.

[4]) H. Straub, K. Beckmann, H. Erdt und M. Mettenleiter, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **117**, 397 (bes. 401), 419, 497 u. 517. 1915.

[5]) H. Straub, Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 27.

[6]) Th. Lewis, J. H. Ryffel, C. G. L. Wolf, T. Cotton und J. Barcroft, Heart **5**, 45. 1913.

[7]) E. P. Poulton und J. H. Ryffel, Journ. of physiol. **46**, 47. 1913.

[8]) Sellards, Bull. of John Hopkins hosp. **23**, 289. 1912 und **25**, 141. 1914; zit. nach Peabody.

[9]) Palmer, Med. Commun. Massachusetts. Med. Soc. **24**, 113. 1913.

[10]) F. W. Peabody, Arch. of internal med. **26**, 955. 1915.

Gewebe, nicht aber das Blut an Alkali verarmt. Bei den Fällen aber, bei denen mehr als 50 und bis zu 80 g Natr. bicarbonic. gegeben werden müssen, ehe der Urin alkalisch wird, ist auch die Kohlensäurespannung der Alveolarluft unter den normalen Wert herabgesetzt.

Belastet man die Niere im umgekehrten Sinne, indem man per os Salzsäure zuführt [Begun und Münzer[1])], so findet man, daß die zugelegten Chlorionen bei Nierenkranken stark verzögert ausgeschieden werden und daß im Gegensatz zum Gesunden die Kohlensäurespannung im Blute des rechten Herzens, nach Pleschs Methode bestimmt, sinkt. Im Gegensatz zum Gesunden und bemerkenswerter Weise auch zum Diabetiker mit Acidose bewerkstelligt aber der Nierenkranke diese Mehrausscheidung saurer Valenzen nicht durch eine Vermehrung des Harnammoniaks, sondern die Ammoniakausscheidung der Nierenkranken ist eher abnorm gering. Nierenkranke zeigen also nach den Angaben von Begun und Münzer eine Herabsetzung des Vermögens, Ammoniak zu bilden oder abzuspalten.

Der schlüssige Beweis für das Bestehen einer Acidose im Sinne Naunyns bei Nierenkranken kann durch den Nachweis einer geänderten Kohlensäurebindungskurve des Blutes geführt werden. Denn Naunyn bezeichnet als Acidose das Auftreten abnormer Mengen nichtflüchtiger Säuren, die der Kohlensäure Alkali wegnehmen und dadurch Kohlensäure aus dem Blute verdrängen. Zu diesem Zwecke ist es, wie A. Löwy und Münzer gezeigt haben[2]), erforderlich, das Blut im Aërotonometer mit einer Atmosphäre bekannter Kohlensäurespannung in Gleichgewicht zu setzen und dann seinen Kohlensäuregehalt zu ermitteln. Daß mit diesem Verfahren der Nachweis einer Acidose erbracht werden kann, haben A. Löwy und Münzer[2]) bei Tieren mit experimenteller Säurevergiftung, Morawitz und Walker[3]) beim Menschen gezeigt. Die Verfolgung der maßgebenden physikalisch-chemischen Gesetze ergibt, daß es vorteilhafter ist, sich bei der Analyse nicht auf eine oder auf wenige Kohlensäurespannungen zu beschränken, die in der Nähe von 40 mm liegen[4]). Die Bestimmung einer Kohlensäurebindungskurve, die nach analytischer Ermittlung mehrerer Punkte der Kurve bei verschiedenen Kohlensäurespannungen durch diese Punkte gezogen werden kann, verspricht neben dem Nachweis und neben der Feststellung der Menge etwaiger pathologischer Säuren auch Aufschlüsse über die Natur derselben.

Ehe die Methode der Bestimmung von Kohlensäurebindungskurven der Untersuchung pathologischer Fälle dienstbar gemacht wurde, war es notwendig, zu ermitteln, welche Werte als normal zu betrachten sind. Durch 320 Bestimmungen bei 64 Personen haben wir[5]) einen in Abb. 1 schraffiert umrandeten Bezirk ermittelt, in den die normalen Kohlensäurebindungskurven unter den von uns eingehaltenen Versuchsbedingungen fallen. Die spärlichen damals schon vorliegenden und die etwas zahlreicheren seitdem mitgeteilten Kohlensäurebindungskurven verschiedener anderer Untersucher in den verschiedensten Laboratorien außerhalb Deutschlands fallen in einen Bezirk, der mit dem von uns bestimmten nicht vollkommen übereinstimmt. Der Bindungsbezirk der Weltliteratur ist weniger breit als der unsrige, seine obere Hälfte fällt mit der unteren unseres Bezirkes zusammen, seine untere Hälfte liegt unter unserem Bezirke und der Verlauf der Bindungskurven ist im Anfangsteile ein etwas steilerer, was auf stärkere Pufferung hinweist. Bei hohen Kohlensäurespannungen nähert sich dadurch die untere Grenze der

[1]) A. Begun und E. Münzer, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **20**, 1. 1919.
[2]) A. Löwy und E. Münzer, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1901.
[3]) P. Morawitz und J. Ch. Walker, diese Zeitschr. **60**, 395. 1914.
[4]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. **89**, 156. 1918.
[5]) H. Straub und Kl. Meier, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **129**, 54. 1919.

Bindungskurven der Weltliteratur unserer unteren Grenze mehr und mehr. Wir werden auf diese Unterschiede in einer späteren Mitteilung zurückkommen. Wir haben uns überzeugt, daß unsere etwas abweichenden Kurven nicht durch einen Fehler unserer Versuchstechnik zu erklären sind, sondern dadurch, daß unsere normalen Versuchspersonen unter etwas anderen Versuchsbedingungen standen als die der englischen, dänischen und amerikanischen Forscher. Jetzt, wo sich die äußeren Bedingungen unserer Versuchspersonen den im Ausland herrschenden nähern, stimmen auch unsere Bindungskurven mit denen der ausländischen Autoren überein. Da aber unsere in den Jahren 1917—1919 untersuchten Nierenkranken unter denselben äußeren Verhältnissen lebten wie unsere „normalen" Vergleichspersonen, muß für diese Fälle der damals mitgeteilte Normalbezirk zugrunde gelegt werden.

Für Kohlensäurebindungskurven, die unterhalb unseres Normalbezirkes gelegen sind, hatten wir entsprechend der Ausdrucksweise Naunyns die Bezeichnung acidotisch gebraucht, für oberhalb des Normalbezirks gelegene Bindungskurven den Ausdruck alkalotisch. Da wir uns jedoch inzwischen überzeugt haben, daß diese Ausdrucksweise zu Mißverständnissen Veranlassung gibt, haben wir uns inzwischen daran gewöhnt, im Anschluß an die Ausdrucksweise Mossos bei Bindungskurven mit niedrigem Kohlensäurefassungsvermögen von Hypokapnie (Kapnos = Rauch, Kohlensäure) zu sprechen. Normale Bindungskurven sind dementsprechend als eukapnisch, abnorm hohe als hyperkapnisch zu bezeichnen. Da dieselben Ausdrücke auch in der in den letzten Monaten eingetroffenen amerikanischen Literatur[1]) gebraucht und zudem von Winterstein[2]) empfohlen werden, dürften sie sich wohl bald einbürgern. Hypokapnie der Kohlensäurebindungskurve ist also die Eigenschaft, die Naunyn zur Kennzeichnung der Acidose in dem von ihm definierten Sinne gebraucht. Die Menge der zur Bindung von Kohlensäure verfügbaren basischen Valenzen wird zweckmäßig als Alkalireserve[3]) bezeichnet. Als Maßstab der Alkalireserve die Menge der im Serum oder Plasma gebundenen Kohlensäure zu benützen, wie dies Cullen und van Slyke getan haben, ist nicht angängig. Denn diese Kohlensäuremenge ist[4]) im selben Blute wechselnd je nach den Umständen, unter denen Plasma und Körperchen getrennt wurden. Der objektive Maßstab der Alkalireserve ist demnach die von uns ermittelte Kohlensäurebindungskurve des Gesamtblutes.

In den Jahren 1917—1919 haben wir an der I. Medizinischen Klinik der Universität München mit der früher[5]) von uns geschilderten Technik Kohlensäurebindungskurven des Blutes von Nierenkranken bestimmt und diese Bestimmungen durch Analysen der Blutzusammensetzung und der Harnausscheidungsverhältnisse unserer Kranken, sowie durch Bestimmung der alveolären Kohlensäurespannung nach der Methode von Haldane ergänzt. Im ganzen haben wir den Verlauf von 75 Bindungskurven bei 50 Nierenkranken der verschiedensten Formen und Stadien bestimmt, wobei wir uns vorwiegend auf solche Fälle beschränkten, bei denen aus den sonstigen klinischen Beobachtungen mit der Möglichkeit einer Veränderung der Bindungskurve zu rechnen war. Über die Ergebnisse unserer ersten 48 Bindungskurven bei 32 Nierenkranken haben wir in einer vorläufigen Mitteilung[6]) kurz berichtet, indem wir uns eine ausführliche Mitteilung der Ergebnisse vorbehielten.

[1]) H. W. Haggard und Y. Henderson, Journ. of biol. chem. **39**, 163. 1919.

[2]) H. Winterstein, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **187**, 293. 1921.

[3]) Der Ausdruck wird anscheinend erstmals in einer uns z. Z. nicht zugänglichen Arbeit von Cullen und van Slyke gebraucht.

[4]) K. A. Hasselbalch und E. J. Warburg, diese Zeitschr. **86**, 410. 1918.

[5]) H. Straub und Kl. Meier, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **129**, 54. 1919.

[6]) H. Straub und Kl. Meier, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **125**, 477. 1918.

Über die Höhe der Kohlensäurebindung bei einer nahe 40 mm gelegenen Kohlensäurespannung haben in 5 Fällen von „Nephritis" Sonne und Jarlöv[1]) berichtet. Ebenso hat neuerdings Kuhlmann[2]) die Kohlensäurekapazität des Blutes Nierenkranker bestimmt, nachdem er dieses Blut mit einer Atmosphäre von etwa 5% Kohlensäuregehalt geschüttelt hatte. Leider hat er es unterlassen, das Tonometergas zu analysieren und daraus die Kohlensäurespannung zu berechnen. Schließlich teilen Means, Bock und Woodwell[3]) 2 Bindungskurven eines Falles von Nierensklerose mit Prostatahypertrophie und doppelseitiger Pyelonephritis mit. Die amerikanischen Autoren tragen ihre Bindungskurven in ein Koordinatensystem ein, das mit dem von uns gebrauchten übereinstimmt. Auch das von Haggard und Henderson[4]) bei ihren Tierversuchen über die Wirkung der Säurevergiftung und des Sauerstoffmangels gebrauchte Koordinatensystem weicht von dem unsrigen nur insofern unbedeutend ab, als diese Autoren die physikalisch gelöste „freie" Kohlensäure, die wir durch ein schraffiertes, auf die Abscissenlinie aufgesetztes Dreieck angeben (vgl. Abb. 1), als ein ebensolches Dreieck unter die Abscisse hinunterreichend auftragen. Unsere von der Abscisse aus nach oben reichenden Ordinaten, die die gesamte durch Analyse ermittelte Kohlensäure, also die Summe der freien und der gebundenen Kohlensäure, bedeuten, entsprechen also in den Diagrammen der genannten Autoren denjenigen Ordinaten, die von ihrem schrägen Unterrande des Dreiecks bis zur Bindungskurve reichen.

Auch bei den Nierenkranken haben wir die gewonnenen Kohlensäurebindungskurven in der früher[5]) geschilderten Weise in ein Koordinatensystem eingetragen, dessen Abscisse die Kohlensäurespannung, dessen Ordinate die entsprechende Kohlensäurekapazität in Volumprozenten bedeutet. Diese graphische Darstellung gibt ein gutes Bild der verfügbaren Alkalireserve und vor allem der Bedingungen, unter denen die Beförderung der Kohlensäure aus dem Gewebe in das Blut stattfindet. Auch im Gewebe richtet sich ja die Abgabe an das Blut nach dem Kohlensäurepartiardruck. Welche Kohlensäuremenge bei Steigen des Partiardrucks um einen bestimmten Wert in das Blut abgegeben werden kann, ist von dem Verlauf der Kohlensäurebindungskurve abhängig und aus deren Verlauf ohne weiteres ersichtlich.

Nach dem Massenwirkungsgesetz läßt sich auf Grund einer von Hasselbalch[6]) aufgestellten Formel für jeden einzelnen Punkt der Kohlensäurebindungskurve die aktuelle Reaktion, d. h. die Wasserstoffzahl berechnen. Diese Berechnung ergibt den Wert einfacher und genauer als er mit der Gaskette bestimmt werden kann[5]). Um diese Berechnung zu ersparen, haben wir[5]) in unser Koordinatensystem die aus Hasselbalchs Formel berechneten Linien gleicher Wasserstoffzahl als eine vom Nullpunkt des Koordinatensystems ausgehende Kurvenschar eingetragen (vgl. Abb. 1). Die wesentlichsten Eigenschaften einer Kohlensäurebindungskurve werden mit einer einzigen Zahl angegeben, indem man die bei 40 mm Kohlensäurespannung im Blute herrschende Wasserstoffzahl angibt. Diese Wasserstoffzahl wird von Hasselbalch als reduzierte Wasserstoffzahl bezeichnet, während als regulierte die Wasserstoffzahl bezeichnet wird, die bei der im Arterienblut herrschenden Kohlensäurespannung entsteht. 40 mm Kohlensäurespannung herrschen als Durchschnitt im Arterienblute Gesunder.

---

[1]) C. Sonne und E. Jarlöv, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **124**, 379. 1918.

[2]) B. Kuhlmann, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **133**, 346. 1920.

[3]) J. H. Means, A. V. Bock und M. N. Woodwell, Journ. of exp. med. **33**, 201. 1921.

[4]) H. W. Haggard und Y. Henderson, Journ. of biol. chem. **39**, 163. 1919.

[5]) H. Straub und Kl. Meier, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **129**, 54. 1919.

[6]) K. A. Hasselbalch, diese Zeitschr. **78**, 112. 1916.

Zahlreiche der von uns bei Nierenkranken gefundenen Kohlensäurebindungskurven weisen in ihrem Verlauf eine Unstetigkeit auf. Die Kurve beginnt bei einer bestimmten Wasserstoffzahl plötzlich unstetig steiler anzusteigen. Sie folgt dabei der Linie der betreffenden Wasserstoffzahl so lange, bis pro Mol Hämoglobin 1 Mol Kohlensäure mehr gebunden ist. Dann biegt die Kurve wieder in die ursprüngliche Richtung. Bei den hier mitgeteilten Kurven trat die Unstetigkeit meist auf, wenn die Wasserstoffzahl $p_H = 6{,}78$ erreicht war. Diese Unstetigkeit der Kohlensäurebindungskurven haben wir schon früher[1]) beschrieben und auf die Entladung der Plasmahautkolloide der Erythrocyten bezogen. In einer Reihe von Mitteilungen[2]) haben wir die Abhängigkeit der Lage dieses Knicks von der Beschaffenheit der Lösung untersucht, in der die Blutkörperchen suspendiert sind. Auf die Bedingungen, von denen die Lage des Knicks im Gesamtblut abhängt, werden wir in einer späteren Mitteilung zurückkommen.

Die Kohlensäurebindungskurven haben wir durch Analysen der übrigen Serumbestandteile in üblicher Weise ergänzt. Wir begnügen uns in dieser Mitteilung mit der Wiedergabe weniger unentbehrlicher Zahlen und werden auf die Bedeutung der Serumanalysen unserer Fälle in einer späteren Mitteilung zurückkommen. Als Indikator für den Wassergehalt des Blutes diente uns die Zählung der roten Blutkörperchen und die Bestimmung des Hämoglobingehaltes nach Sahli. Auch der Brechungsindex des durch spontane Gerinnung des Blutes in hohen offenen Zylindern gewonnenen Blutserums wurde mit dem Pulfrichschen Eintauchrefraktometer bestimmt und nach den für Blutserum ermittelten Tabellen als Eiweiß ausgedrückt. Wir sind uns bewußt, daß dieses Vorgehen einer strengen Kritik nicht standhält, da die Brechung nicht allein durch den Eiweißgehalt, sondern auch durch den Salzgehalt und den Reststickstoff beeinflußt wird. Da aber der Reststickstoff, der Gehalt an den wichtigsten Salzen und die Gefrierpunktserniedrigung meist gleichzeitig bestimmt wurden, ist die Möglichkeit einer Korrektur gegeben. Wir haben deshalb unter diesem Vorbehalt die Refraktometerwerte als ungefähren Anhalt in Eiweiß umgerechnet aufgeführt.

Der Plan unserer Untersuchungen war durch die in der Einleitung erörterte Fragestellung gegeben. Zunächst war festzustellen, ob überhaupt bei Nierenkranken eine Änderung der Alkalireserve, eine Acidose im Sinne Naunyns vorkommt. Dann war zu ermitteln, ob bestimmte der als urämisch bezeichneten Krankheitserscheinungen mit den gefundenen Änderungen der Alkalireserve in Beziehung zu setzen sind. Vor allem war dabei auf das Verhalten der Atmung zu achten. Nach den vorliegenden klinischen und experimentellen Beobachtungen kann heute kein Zweifel mehr bestehen, daß bei Herabsetzung der Kohlensäurekapazität des Blutes eine Erhöhung der Ventilationsgröße, also eine Dyspnöe im klinischen Sinne, auftreten muß, wenn sich nicht die Empfindlichkeit des Atemzentrums geändert hat. Die Frage nach der Ursache der urämischen Dyspnöe muß sich auf diesem Wege eindeutig klären lassen. Die Gliederung der von uns beobachteten 50 Fälle von Nierenkranken haben wir nach den zur Zeit gebräuchlichen klinischen Krankheitsgruppen vorgenommen.

---

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. **89**, 156. 1918.

[2]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. **98**, 205 u. 228. 1919; **109**, 47. 1920; **111**, 45 u. 67. 1920.

I. Vorwiegend tubuläre Nierenerkrankungen und Amyloidnieren. (Nephrosen und Amyloidnephrosen.)

Bei einer „genuinen" Nephrose mit starken Ödemen, normalem Blutdruck (130/75 mm Hg), der keinen Stickstoff (Rest-N 30 mg-%), aber Kochsalz (655 mg-%) retinierte, fanden wir eine Kohlensäurebindungskurve, die im normalen Bezirk rund 3—4 Vol.-% oberhalb dessen unterer Grenze verläuft, ungefähr entsprechend der punktierten

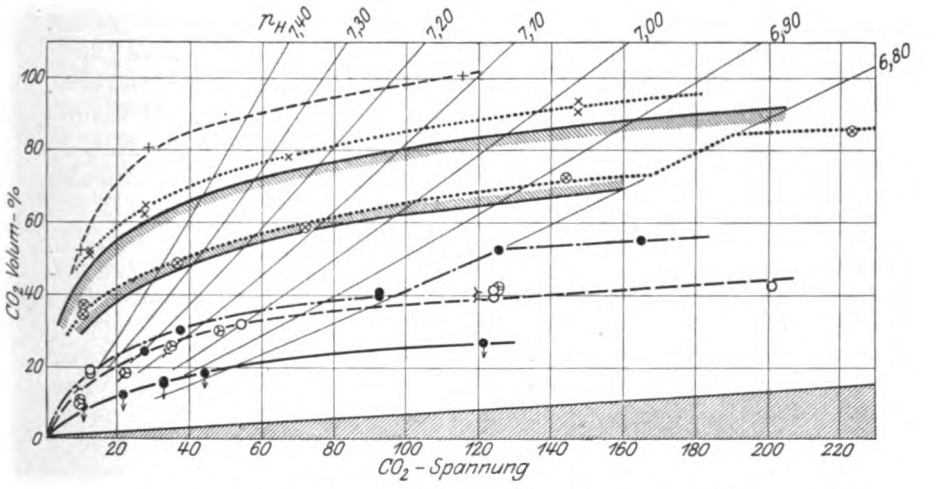


Abb. 1. Kohlensäurebindungskurven von Nierenkranken. Abszisse: Kohlensäurespannung in mm Hg. Ordinate: Kohlensäurekapazität in Volumprozent. Schraffiertes Dreieck am Unterrande: physikalisch absorbierte („freie") Kohlensäure. Schraffierter Bezirk: normaler Bindungsbezirk, in den 320 Bestimmungen bei 64 Normalpersonen fielen, die zu derselben Zeit unter denselben äußeren Lebensbedingungen untersucht wurden. Die vom Nullpunkte des Koordinatensystems ausgehende Kurvenschar bedeutet Linien gleicher Wasserstoffzahl. Die am Ende jeder Kurve angegebene Zahl ist der negative Logarithmus der in der Lösung tatsächlich enthaltenen dissoziierten Wasserstoffionen.

+×⊗●○➢⊛ tatsächliche Bestimmung.
+--------+ Fall 35. Nierensklerose. Hochgradige Hyperkapnie.
×·····× Fall 37. Nierensklerose. 9. I. 18. Hyperkapnie.
⊗·····⊗ Derselbe Fall. 21. I. 18. Eukapnie. Unstetigkeit bei $p_H = 6{,}78$.
●—·—·—● Fall 4. Quecksilberniere. Hypokapnie. Unstetigkeit bei $p_H = 6{,}78$.
○——○ Fall 49. Nierensklerose. Schwere Hypokapnie.
➢——➢ Fall 18. Subakute Glomerulonephritis. 18. VII. 17. Hypokapnie.
⊛——⊛ Derselbe Fall. 20. VII. 17. Identische Kurve.
⊛——⊛ Fall 50. Nierensklerose. Schwerste Hypokapnie.

Kurve der Abb. 1. Bei der Kohlensäurespannung 186 mm zeigt die Bindungskurve eine Unstetigkeit, indem sie der Wasserstofflinie 6,78 folgt, um dann auf einer ungefähr 15 Vol.-% höheren Lage wieder in die ursprüngliche Richtung einzubiegen. Die Kurve kreuzt die Kohlensäurespannung 40 mm bei der Wasserstoffzahl 7,34 (reduzierte Wasserstoffzahl).

1. L. Be. ♂, 38 Jahre. Starke Ödeme. Oligurie. 11‰ Eiweiß. Cylinder aller Arten, keine Erythrocyten. Serum chylös, milchig getrübt. Hydrämie. Hb. 70%, Rote 3,58 Mill. Eiweiß (Refraktometer) 5,91%.

Kohlensäurebindungskurve (23. I. 1919):

CO_2-Spannung . .	25,9	112,6	186,1	233,2
CO_2-Kapazität . .	47,6	67,0	78,9	91,2
		65,2	79,2	90,4
		Knick p_H	6,78	
			6,79	

Eine Amyloidniere dagegen bei ausgedehnten, tertiär luetischen Hautulcerationen mit sehr starken Ödemen und normalem Blutdruck, die Stickstoff unbeträchtlich (Rest-N 66 mg-%), Kochsalz nicht (560 mg-%) retinierte, hat eine leicht hypokapnische Bindungskurve. Bei den im strömenden Blute herrschenden niedrigen Kohlensäurespannungen bindet sie 3—4 Vol.-% CO_2 zu wenig. Bei hohen Kohlensäurespannungen nähert sie sich der unteren Grenze des normalen Bezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,27.

2. N. ♀. Oligurie. 12‰ Eiweiß. Enorme Mengen von Cylindern aller Arten. Serum chylös, milchig getrübt. Hydrämie (Eiweiß 6,06%). Pathologisch-anatomisch (5. III. 1918): Große weiße Niere, in Glomerulis und Gefäßen reichlich Amyloid. Kohlensäurebindungskurve (14. II. 1918):

CO_2-Spannung . . .	15,2	45,6	87,8	172,2
CO_2-Kapazität . . .	27,2	46,2	58,1	72,0
	30,0			68,1

II. Quecksilbernieren.

Die drei von uns beobachteten Fälle von Hg-Vergiftung bieten besonderes Interesse wegen der akuten, in wenigen Tagen tödlich endenden Entwicklung des Krankheitsbildes. Es handelte sich bei allen 3 Fällen um Suicidversuche bis dahin gesunder, kräftiger, junger Mädchen. Bei allen entwickelte sich eine deutliche, aber keineswegs hochgradige Dyspnöe, die subjektiv wenig empfunden wird, weil sich bei allen zunehmende Somnolenz einstellt. Bei allen zeigt die Kohlensäurebindungskurve hochgradige Hypokapnie an, die bei dem ersten Falle (Nr. 3) schon am 7. Krankheitstage, bei der ersten Beobachtung, maximale Werte erreicht, etwa entsprechend dem bei Coma diabeticum beobachteten Grade von Hypokapnie. Am 9., 14. und 15. Krankheitstage liegen die Bindungskurven wenig höher. Ihr Verlauf entspricht ungefähr den tiefen in Abb. 1 wiedergegebenen Kurven. Die reduzierte Wasserstoffzahl beträgt bei der ersten Beobachtung 6,95, bei den späteren etwa 7,04[1]). Da diese Kurven in dem im Blute zu erwartenden Spannungsbezirk sehr flach verlaufen, kann das Blut in der Volumeinheit nur sehr wenig Kohlensäure befördern. Am 16. Krankheitstage tritt der Exitus letalis ein.

[1]) Die abweichenden Angaben über die reduzierte Wasserstoffzahl in unserer vorläufigen Mitteilung beruhen auf einem Irrtum und sind richtig zu stellen.

Der zweite Fall (Nr. 4) bietet das Bild einer fast reinen Nierenausschaltung mit Inanition. Die gesamte Nahrungsaufnahme in 7 Krankheitstagen bestand nämlich nach Einnahme der Sublimatpastille bis zum Tode aus $1^1/_4$ Liter Milch, $^1/_4$ Liter Schleimsuppe und etwas Tee. Am Tage nach der Vergiftung erfolgten 3 grünliche Durchfälle, dann kein Stuhl mehr, nie Erbrechen. Am Nachmittag des Vergiftungstages wurde aus der Blase noch wenig fast eiweißfreier Urin entleert, dann bestand völlige Anurie. In der Leiche fanden sich nur ca. 6 ccm Urin. Der Tod erfolgte am 7. Krankheitstage plötzlich, kurz nach Auftreten einer an diesem Tage erstmals nachweisbaren Bronchopneumonie. Bei dieser Kranken war am 6. Krankheitstage eine mäßige Hypokapnie nachweisbar, die Bindungskurve verlief nur etwa 4—5 Vol.-% unter dem normalen Bezirk. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,25. Bis dahin bestand keine merkliche Dyspnöe. Bis zum 7. Krankheitstage erfolgte dann aber ein beträchtlicher Sturz der Alkalireserve, die Kurve liegt 20 Vol.-% unter dem Normalbezirk, die reduzierte Wasserstoffzahl ist 7,11 Abb. 1, strichpunktierte Kurve, tatsächliche Bestimmungen = Punkte). Eine Unstetigkeit bei $p_H = 6{,}78$ hebt die Lage der Kurve um rund 10—11 Vol.-%.

Im dritten hierher gehörigen Falle endlich (Nr. 5) bestand Anurie nur bis zum 7. Krankheitstage, dann kam eine geringe Diurese in Gang. Der Tod trat am 14. Krankheitstage ein, nachdem seit dem 13. Tage urämische („eklamptische") Krampfanfälle aufgetreten waren. Die auch in diesem Falle am 14. Krankheitstage beobachtete Hypokapnie der Kohlensäurebindungskurve ist geringer als die finale Hypokapnie der beiden anderen Fälle, aber ebenfalls deutlich. Die Kurve verläuft etwa 10 Vol.-% zu tief, reduzierte Wasserstoffzahl 7,20.

3. J. H. ♀, 26 Jahre. 28. VI. 1917 eine Oxycyanatpastille. Krankenhausaufnahme 2. VII. Mundverätzungen, schleimig-blutige Durchfälle. Blutdruck von 130 im Laufe der Beobachtung auf 150 mm Hg. ansteigend. Anfangs Anurie, dann ansteigende Diurese bis 4750 ccm am 10. VII. Kochsalzgehalt des Urins 0,32—0,44%. Glykosurie. Spärl. Cylinder und Erythrocyten. Indikan stark positiv. Blutbefund Hb. 50%, Rote 3,6 Mill. Rest-N von 140 am 3. VII. auf 221 mg-% am 10. VII. ansteigend. Ab 5. VII. nächtliche Beklemmung, Atmung tief und regelmäßig. Ab 7. VII. tiefe, frequente Atmung, 32 Züge. Kopfschmerz, Erbrechen. Am 11. VII. urämische („eklamptische") Krampfanfälle. Lumbalpunktion: Liquordruck 230 mm. 12. VII. Koma, 13. VII. Exitus.

Kohlensäurebindungskurven:

	4. VII. 17		6. VII. 17				11. VII. 17	12. VII. 17	
CO_2-Spannung	34,8	39,0	12,7	23,1	33,5	43,9	32,3	35,4	47,5
CO_2-Kapazität	17,1	22,3	19,8	24,0	24,4	26,2	23,9	23,5	25,6
	19,8		20,8				24,9		

4. Th. Schm. ♀, 4. VII. 1918. Eine Sublimatpastille. Blutdruck zwischen 95 und 115 mm Hg. Blutbefund Hb. 70%, Rote 4,2 Mill. Refraktometerwert 7,54 bzw. 8,28% Eiweiß. Der Rest-N stieg bis 223 mg-% an. Exitus 10. VII. Autoptisch: Schwerste Nierendegeneration, Tubulusepithelien weitgehend zerstört, Glomeruli gut durchblutet.

Kohlensäurebindungskurve (9. VII. 1918):

CO_2-Spannung . .	17,6	88,1	125,5	190,1	251,9
CO_2-Kapazität . .	34,0	57,1	57,1	64,1	72,8
	33,6		58,7		
(10. VII. 1918):					
CO_2-Spannung . .	27,9	37,7	92,4	125,7	165,0
CO_2-Kapazität . .	24,4	30,4	39,6	52,5	55,0
			40,9	47,6	55,4
			Knick	$p_H = \frac{6,80}{6,76}$	

5. Th. L. S., 24 Jahre alt. 20. II. 1919 3 Oxycyanatpastillen. Blutdruck von 95 auf 140 mm Hg ansteigend. Blutbefund: 27. II. Hb. 75%, Rote 6,3 Mill. Refraktometerwert 7,6% Eiweiß. Am 3. III. Hb. 50%, Rote 4 Mill., Refraktometerwert 7,6% Eiweiß. Der Reststickstoff stieg bis auf 328 mg-% (4. III.). Am 4. und 5. III. Krampfanfälle, am 5. III. Exitus.

Kohlensäurebindungskurve (5. III. 1919) 5 Stunden ante exitum:

CO_2-Spannung . .	25,0	59,6	134,6	160,4	235,4
CO_2-Kapazität . .	31,4	44,7	47,3	57,0	64,5
			p_H = 6,72	6,71	63,4
			Knick		

III. Akute und subakute Glomerulonephritiden.

Unter den 8 hierher gehörigen, von uns untersuchten Fällen, fanden sich 3 (Fall 6, 7, 8) leichtere Störungen, die zur Zeit der Beobachtung nur mäßige Albuminurie und Hämaturie, dabei normalen oder unbedeutend erhöhten arteriellen Blutdruck aufwiesen. Zeichen von Niereninsuffizienz bestanden nicht, der Reststickstoff war nicht erhöht. Anomalien der Atmung wurden nicht beobachtet. Bei allen 3 Fällen verlief die Kohlensäurebindungskurve innerhalb des normalen Bezirkes. Im Falle 6 wurde die Alkalireserve 2 mal im Abstand von 4 Wochen untersucht, einmal während des Bestehens der akuten Symptome, das zweite Mal nach völliger Wiederherstellung des normalen Befundes. Beidemale ergaben sich identische Werte. Ebenso wie beim Gesunden ist auch bei diesen 3 Fällen die absolute Höhe der Alkalireserve verschieden. Bei Fall 7 liegt sie wesentlich höher als bei den beiden anderen, nämlich am oberen Rande des normalen Bezirkes. Die reduzierte Wasserstoffzahl dieses Falles beträgt 7,42, die von Fall 6: 7,32, von Fall 8: 7,33.

6. Fr. Z. S., 24 Jahre alt. Leichteste akute hämorrhagische Nephritis. Seit 20. V. 1917 Kopfschmerz, Kreuzschmerz, Übelkeit, Müdigkeit, Beinödem, Oligurie, keine Dyspnöe. Blutdruck 115/80 mm Hg. Normalurie. Eiweiß 2‰. Zahlreiche Cylinder, einige Erythrocyten. Blutbefund: Hb. 70%, Rote 4,96 Mill. Rest-N 27 mg-%. Albuminurie und Hämaturie bald verschwunden, Blutdruck dauernd normal.

Kohlensäurebindungskurve:	2. VI. 17		22. VI. 17		
CO_2-Spannung	41,4		28,0	37,2	46,4
	48,4	51,2	44,7	46,0	50,5
CO_2-Kapazität	50,1	48,7	45,7		

7. R. Br. ♀, 20 Jahre alt. 2. XI. 1917 Angina. 5. XI. Gesichts- und Beinödem. Keine Dyspnöe. Blutdruck 150/110 mm Hg. Normalurie, bald Polyurie bei Ausscheidung der Ödeme. Albuminurie, Cylinder und Erythrocyten. Blutbefund: Hb. 75%, Rote 4,39 Mill. Nach Tonsillektomie geheilt am 22. III. entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (12. XI. 1917):

CO_2-Spannung	10,5	29,4	60,6
CO_2-Kapazität	46,2	62,0	72,4

8. H. Ell. ♂, 14 Jahre alt. Subakute Glomerulonephritis. Mitte November 1916 nach Angina Hämaturie, Oligurie, Ödeme. Seitdem mehrfach Hämaturie. Befund 19. II. 1917: Gesichtsödem, keine Dyspnöe. Blutdruck 120/70 mm Hg. Polyurie, geringe Albuminurie, im Sediment Erythrocyten und reichlich Cylinder. Blutbefund: Hb. 90%, Rote 4,9 Mill. Rest-N 25 mg-%. Wasser- und Konzentrationsversuch glatt erledigt. Bei interkurrenter Angina stärkere Hämaturie. Am 6. VI. 1917 unverändert entlassen. Am 12. V. 1917 betrug die Kohlensäurekapazität 52,3, 52,5, 54,0 Vol.-% bei der Kohlensäurespannung 43,4 mm.

Bei einem weiteren Falle (Nr. 9) bestanden deutliche Zeichen von Niereninsuffizienz, Retention von Reststickstoff und Kochsalz, suburämische Symptome: Kopfschmerz, Schwindel, Übelkeit, morgendliches Erbrechen. Dennoch verlief die Kohlensäurebindungskurve im normalen Bezirke. Die bestehende deutliche Dyspnöe mit Atemfrequenz 31 kann jedoch durch eine doppelseitige Bronchopneumonie mit kleinen Pleuraergüssen als pulmonale erklärt und braucht nicht als renale aufgefaßt zu werden. Immerhin liegt die Alkalireserve am Unterrande der Norm, reduzierte Wasserstoffzahl 7,30. Der letzte Punkt liegt höher als dem Zug der Kurve entspricht, offenbar im Knick 6,80.

9. Fr. H. ♀, 38 Jahre alt. Seit Ende Februar 1918 Oligurie, Gesichts-, später Knöchelödem, dann Schweratmigkeit. Befund (8. III. 1918): Blutdruck 160/70 mm Hg. Oligurie, später Ausscheidungspolyurie. Albuminurie bis 15‰, Hämaturie, Cylindrurie. Blutbefund: Hb. 55%, Rote 3 Mill. Refraktometerwert 7,14% Eiweiß. Rest-N 111 mg-%, NaCl 650 mg-%. Ausgangspunkt: Chron. Periodontitis mit Parulis. Zahnextraktion. Mit Blutdruck 125 mm Hg, Rest-N 38 mg-%, geringer Albuminurie und spärl. Erythrocyten am 1. VI. 1918 entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (15. III. 1918):

CO_2-Spannung	13,3	42,5	83,4	173,3
CO_2-Kapazität	31,1	49,9	57,9	75,7
	32,3			Knick 6,80

Ein viel schwereres klinisches Zustandsbild bot der folgende Fall (Nr. 10) einer im Beginn schwer dekompensierten akuten Nephritis, die aber bis auf Spuren ausheilte. Vor allem bestand hier zu Beginn schwere Dyspnöe, zeitweilig Andeutung von periodischem Atmen. Dennoch zeigte die Kohlensäurebindungskurve Eukapnie, sie verläuft hoch, nur 4 Vol.-% unterhalb der oberen Grenze der Norm. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,41.

10. M. Be. ♀, 25 Jahre alt. Ende November 1917 Knöchelödem, starke Dyspnöe, Kopfschmerz, Durst, Oligurie. Befund: Starke Ödeme, Cyanose, erhebliche Dyspnöe, Atemfrequenz 28. Somnolenz, einzelne Zuckungen der Glieder. Blut-

druck 180 mm Hg. Albuminurie, Hämaturie, zahlreiche Cylinder. Blutbefund: Hb. 73%, Rote 4 Mill. Refraktometerwert 7,63% Eiweiß. Rest-N 76 mg-%. NaCl 660 mg-%. Mit normalem Blutdruck und spärlichen Erythrocyten im Urinsediment am 8. I. 1918 entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (4. XII. 1917):

CO_2-Spannung	10,3	48,6	133,8
CO_2-Kapazität	46,2	63,0	82,5
	45,8	65,9	80,3

Diesen 5 Fällen mit normaler Kohlensäurebindungskurve stehen aber 3 gegenüber, bei denen deutliche Abweichungen von der Norm nachweisbar waren. Der erste (Nr. 11) steht an der Grenze. Er wurde im Coma urämicum in das Krankenhaus gebracht mit klonischen Zuckungen an Armen und Beinen. Die Atmung war tief, nicht beschleunigt. Auch in den folgenden Tagen bestand noch geringe Atemnot, besonders bei Nacht. Die Kohlensäurebindungskurve verläuft zwar um diese Zeit am Unterrande, dicht unter dem normalen Bindungsbezirk, die reduzierte Wasserstoffzahl ist 7,30. Daß die Kurve aber für den betreffenden Fall pathologisch erniedrigt ist, zeigt eine später, nach eingetretener Besserung erhaltene Bindungskurve, die deutlich höher verläuft, reduzierte Wasserstoffzahl 7,33.

11. A. Eng. ♂, 16 Jahre alt. Seit Mitte September 1917 zunehmende Oligurie, wachsende Ödeme von Gesicht, Händen, Rumpf. Oft Anginen. Am 2. X. 1917 Aufnahmebefund: Starke Ödeme. Blutdruck 170/80 mm Hg. Oligurie, bald Ausscheidungspolyurie. Albumen spärlich, massenhaft Cylinder und Erythrocyten. Blutbefund: Hb. 79%, Rote 4,2 Mill. Rest-N 50 mg-%. Nach Aderlaß bald Besserung, Ausscheidung der Ödeme, Blutdruck 130 mm Hg. Mit spärlichen Erythrocyten im Sediment am 17. XI. 1917 entlassen.

Kohlensäurebindungskurve:		5. X. 17				6. XI. 17	
CO_2-Spannung	11,0	36,2	119,1	195,5	11,6	28,5	59,5
CO_2-Kapazität	31,8	45,5	67,1	74,0	39,4	47,0	59,2
	34,2			76,9		45,1	

Ausgesprochene Dyspnöe mit sehr hochgradiger Hypokapnie zeigen schließlich die beiden letzten hierher gehörigen Fälle. Eine akute, im Beginn schwer dekompensierte Glomerulonephritis (Fall 12) zeigt noch zu einer Zeit, wo schon deutliche Besserung des Zustandes eingetreten ist, schwerste Hypokapnie, die Bindungskurve verläuft etwa entsprechend der tiefsten in Abb. 1 wiedergegebenen Kurve. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,10. Der Reststickstoff ist bei diesem Kranken bemerkenswerterweise nicht erhöht (37 mg-%). Der letzte Fall (13) endlich ist eine subakute Glomerulonephritis, die im Coma uraemicum zugrunde ging mit heftigen eklamptischen Konvulsionen. Die Atmung war sehr vertieft, Frequenz 28. Die an 2 Tagen kurz ante exitum ermittelten Kohlensäurebindungskurven zeigen schwerste Hypokapnie (Abb. 1, tiefste Kurve, gestrichelt, tatsächliche Bestimmungen am 18. VII. Pfeile, am 20. VII. Pfeilringe). Die erste Kurve liegt eine Spur tiefer als die zweite, reduzierte Wasserstoffzahl 7,06 bzw. 7,08.

12. J. Cl. ♂, 24 Jahre alt. Am 17. VI. 1917 aus voller Gesundheit erkrankt mit Atemnot, Ödemen, Herzklopfen, Herzdruck. Kein Kopfschmerz, kein Brechreiz. Befund: 19. VI. 1917 Starke Ödeme, geringe Cyanose, Dyspnöe. Blutdruck 170/105 mm Hg. Oligurie, bald Ausscheidungspolyurie. Albuminurie, einzelne Cylinder und Erythrocyten. Nach Ausscheidung der Ödeme (11 kg) mit Blutdruck 140/100 mm Hg und einzelnen Erythrocyten im Sediment am 8. VIII. 1917 entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (2. VII. 1917):

CO_2-Spannung . . .	23,4	45,9
CO_2-Kapazität . . .	21,5	30,0

13. V. Sch. ♀, 15 Jahre alt. Seit Ende Mai 1917 Kopfschmerz, Appetitlosigkeit, Gesichts- und Beinödeme. Am 17. VII. 1917 Krankenhausaufnahme. Befund: Koma, Zuckungen in den Extremitäten, schwere Krampfanfälle. Ganz geringes Lidödem. Atmung 28, sehr tief. Renale Herzhypertrophie. Blutdruck 220/140 mm Hg. Oligurie, Albuminurie 7‰, Cylinder aller Arten, Erythrocyten. Rest-N von 120 (17. VII.) auf 196 mg-% (21. VII.) ansteigend. Ab 18. VII. Perikarditis mit wachsendem Exsudat. Bronchopneumonie l. h. u. Exitus 23. VII. 1917. Autoptisch: Bunte Niere mit zahlreichen Schrumpfungsherden. Glomeruli verödet, reichlich interstitielle Veränderungen. Tubuli erweitert, Epithel degeneriert.

Kohlensäurebindungskurve (18. VII. 1917): Abb. 1 Pfeile, gestrichelte Kurve.

CO_2-Spannung	9,6	21,6	33,6	119,9
CO_2-Kapazität	14,0	17,7	24,1	40,6
				39,3

Kohlensäurebindungskurve (20. VII. 1917): Abb. 1 Pfeilringe, gestrichelte Kurve.

CO_2-Spannung . . .	9,6	22,5	35,3	48,2	125,4
CO_2-Kapazität . . .	11,4	18,3	26,0	30,2	42,5
	9,9				41,8

Unter den 8 untersuchten akuten und subakuten Glomerulonephritiden befinden sich demnach 3 leichte Störungen mit geringen klinischen Erscheinungen ohne Niereninsuffizienz, die weder eine Störung der Atmung, noch eine Änderung der Kohlensäurebindungskurve aufweisen. Bei 2 weiteren Fällen akuter Glomerulonephritis mit Niereninsuffizienz mit normaler Bindungskurve bestand Dyspnöe. In dem einen Falle (9) kann diese Dyspnöe als pulmonale aufgefaßt werden. Bei dem anderen Fall (10) dagegen bestanden keine Komplikationen von seiten der Atmungs- oder Kreislaufsorgane, die die hochgradige Dyspnöe zu erklären vermöchten. Da auch keine Hypokapnie des Blutes besteht, muß die Dyspnöe auf eine bisher noch nicht erörterte Veränderung bezogen werden. In den 3 letzten Fällen schließlich steht der Grad der Dyspnöe in einfacher Beziehung zu der Hochgradigkeit der Hypokapnie. Er kann also durch die Blutveränderung erklärt werden.

IV. Chronische Glomerulonephritiden.

Unter den 15 untersuchten chronischen Glomerulonephritiden befanden sich 2, die zur Zeit der Untersuchung keine Schwerat migkeit hatten. Ihre Bindungskurven liegen im normalen Bezirk. Bei dem

ersten dieser Fälle (Nr. 14) handelt es sich um eine Schwangerschaftsnierenerkrankung mit Eklampsie, die im Anfall von einem toten Kinde entbunden war. Die Bindungskurve verläuft durch die Mitte des normalen Bezirkes, reduzierte Wasserstoffzahl 7,38. Auffallend ist der ungewöhnlich schwach gepufferte Verlauf der Kurve. Während die bei niedriger und physiologischer Kohlensäurespannung erhaltenen Punkte nahe dem Oberrande des Normalbezirkes liegen, senkt sich die Kurve bei höheren Kohlensäurespannungen, so daß sie schließlich, bei hohen Spannungswerten, unterhalb der Mitte des Normalbezirkes liegt. Der zweite Fall hatte zu Beginn hochgradige Dyspnöe und mächtige Ödeme gehabt, wurde aber erst nach deren Ausscheidung untersucht. Auch hier besteht Eukapnie, reduzierte Wasserstoffzahl 7,33.

14. Th. Bi. ♀, 36 Jahre alt. Schwangerschaftsniere. 23. VIII. 1917 im neunten Schwangerschaftsmonat eklamptischer Anfall. Am 24. VIII. Entbindung, Kind tot. Ödeme, Kopfschmerz, Sehstörungen bleiben bestehen. Befund 15. IX. 1917: Geringe Ödeme, Meteorismus, keine Dyspnöe. Blutdruck 155/100. Bds. Retinitis albuminurica, zahlreiche Herde in Fovea und Peripherie. Normalurie, geringe Albuminurie, einzelne Cylinder und Erythrocyten. Rest-N 31 mg-%. NaCl 602 mg-%. 4. X. 1917 gebessert entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (21. IX. 1917):

CO_2-Spannung . . .	11,1	40,3	127,0	203,0
CO_2-Kapazität . . .	47,8	61,5	74,8	79,9
	46,5	59,5		

15. Th. Am. ♀, 38 Jahre alt. Seit Ende April 1917 hochgradige Atemnot, dann Ödeme. Herzstechen. Oligurie. Befund 4. VI. 1917: Hochgradige Ödeme. Blutdruck 170/100 mm Hg. Oligurie, nach salzarmer Kost Polyurie. Albuminurie 1‰. Cylinder, Erythrocyten. Rest-N 38. 11. VI. Ödeme fast verschwunden. Nach Ausscheidung der Ödeme (16 kg) mit Blutdruck 135 mm Hg entlassen (7. VII. 1917).

Kohlensäurebindungskurve (11. VI. 1917):

CO_2-Spannung . . .	36,2	44,2
		57,6
CO_2-Kapazität . . .	49,8	58,0
	48,4	55,9

In eine neue Gruppe gehören 5 weitere Fälle, bei denen trotz zum Teil sehr erheblicher Dyspnöe Eukapnie des Blutes bestand. Unter ihnen läßt sich ein Fall (16) möglicherweise als pulmonale Dyspnöe erklären, denn er hatte einen Lungeninfarkt. Die Kohlensäurebindungskurve verläuft durch die Mitte des normalen Bindungsbereiches. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,38.

16. He. ♀, Glomeruläre Ödemnephritis. Lungeninfarkt. Kopfschmerz. Dyspnöe.

Kohlensäurebindungskurve (22. V. 1919):

CO_2Spannung-	24,8	56,3	122,8
CO_2-Kapazität	52,9	62,7	75,9

Wahrscheinlicher aber gehört der Fall 16 mit den beiden folgenden zusammen (Fall 17 u. 18), 2 Glomerulonephritiden mit hochgradigen Ödemen (mit „nephrotischem Einschlag"), bei denen die bestehenden Komplikationen von seiten der Atmungsorgane nicht ausreichen, um den Grad der Dyspnöe zu erklären. Bei Fall 17 besteht zwar Bronchopneumonie und kleiner Pleuraerguß links, jedoch die Atmung ist so angestrengt, 24—28 Züge in der Minute, daß zu ihrem Zustandekommen auch noch andere Momente beitragen dürften. Das Blut zeigt Eukapnie, die Bindungskurve verläuft dicht oberhalb der unteren Grenze der Norm. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,32. Im Falle 18 endlich besteht nur ein kleines Pleuratranssudat. Die Bindungskurve verläuft etwas höher im Normalbezirk, reduzierte Wasserstoffzahl 7,37.

17. J. Wag. ♀, 29 Jahre alt. Dezember 1917 Angina. Danach Ödeme, Kopfschmerz, Erbrechen, Oligurie. Befund 16. I. 1918: Hochgradige Ödeme, angestrengte Atmung, 24—28. Pleuraerguß und Bronchopneumonie links. Blutdruck 185/110 mm Hg. Hochgradige Oligurie, 12‰ Eiweiß, massenhaft Cylinder. Rest-N 101 mg-%. Refraktometerwert des Serums 6,48% Eiweiß. Mehrfach Gesichtserysipel. Exitus 26. III. 1918.

Kohlensäurebindungskurve (22. I. 1918):

CO_2-Spannung	14,3	43,3	83,0	161,0
CO_2-Kapazität	37,0	54,4	61,2	68,5
	36,2		60,8	69,2

18. J. Wal. ♂, 59 Jahre alt. Anfang August 1917 Schwellung der Beine, zunehmende Atembeschwerden, Beklemmung, Oligurie. Befund 18. VIII. 1917: Erhebliche Ödeme, mäßige Dyspnöe und Cyanose. Kleines Pleuratranssudat. Blutdruck 150/80, bald 190/80 mm Hg. Oligurie, starke Albuminurie, Cylinder und Erythrocyten. Rest-N 92 mg-%. Außer vorübergehender Besserung der Dyspnöe keine Veränderung. Exitus 23. IX. 1917. Autoptisch „parenchymatöse" Nephritis.

Kohlensäurebindungskurve (18. IX. 1917):

CO_2-Spannung	12,9	40,7	126,8	201,5
CO_2-Kapazität	41,3	58,6	71,5	78,1
		58,2		

Schließlich gehören hierher noch 2 weitere Fälle mit erheblicher Dyspnöe und Eukapnie des Blutes, bei denen sich deutliche Erscheinungen cerebraler Störungen fanden. Fall 19 ging nach einer Apoplexie zugrunde. Mehrfach waren bei ihm schon seit 2 Jahren kurzdauernde und ohne Residuen zurückgehende Erblindungen aufgetreten. Außer Verengerung der Retinalarterien war dabei ophthalmoskopisch kein Befund zu erheben. 3 Monate ante exitum rechtsseitige Hemiplegie mit Sprachstörung, als deren Ursache bei der Autopsie ein großer Erweichungsherd nachweisbar war. Komplikationen von seiten der Atmungsorgane und des Kreislaufs fehlten. Trotz hochgradiger Dyspnöe fand sich 6 Tage ante exitum Eukapnie, die Bindungskurve verläuft wenig unter der Mitte des normalen Bezirkes. Reduzierte Wasserstoff-

zahl 7,36. Fall 20, eine chronisch gewordene Feldnephritis, zeigte große nervöse Reizbarkeit und Gedächtnisschwäche. Die Pupillen waren eng und reagierten träge, die Venen des Augenhintergrundes waren vermehrt, geschlängelt, die Arterien zeigten Endarteriitis, stellenweise fanden sich neuroretinitische Herde. Später traten Blutungen in der Maculagegend auf. Patellar- und Achillesklonus waren andeutungsweise vorhanden, Babinski fraglich positiv. Die Atmung wechselte, zeitweise war sie beschleunigt, abnorm tief und angestrengt, dann wieder normal. Gegen Schluß wurde bisweilen periodisches Atmen beobachtet. Die Kohlensäurebindungskurve des Blutes verlief am oberen Rande des normalen Feldes, die reduzierte Wasserstoffzahl war 7,36.

19. A. C. ♂, 37 Jahre. Nierensklerose mit Glomerulonephritis. Apoplexie, 1915 Atembeschwerden, Ödeme. Mai 1915 und Mai 1917 plötzliche Erblindung, im Laufe einiger Wochen verschwindend. Transitorische Amaurose am 2. XI. 1917, Juni 1917 Hemiplegie rechts mit Sprachstörung. Seitdem Atemnot, Erbrechen, Schwindel und Kopfschmerz. Befund 28. X. 1917: Starke Dyspnöe, keine Ödeme, Blutdruck 185/110 mm Hg. Oligurie, bald Normalurie. Eiweiß 3‰, Zylinder, Erythrocyten. Augenhintergrund o. B. Rest-N 56 mg-%. Exitus 29. XI. 1917. Autoptisch: Universelle Nierensklerose nebst subakuter Glomerulonephritis. Großer Großhirnerweichungsherd.

Kohlensäurebindungskurve (23. XI. 1917):

CO_2-Spannung	12,0	33,5	62,3	142,5
CO_2-Kapazität	42,4	56,5	63,7	75,0
	41,1			

20. L. Grz. ♂, 42 Jahre. Juli 1915 Feldnephritis nach Angina. Geheilt zur Truppe zurück, doch bestand noch Appetitlosigkeit, Kopf- und Kreuzschmerzen, nervöse Reizbarkeit. Mai 1918 Erbrechen, Oligurie, Kopfschmerz, Mattigkeit, Atemnot. Befund 14. III. 1919: Lidödem. Zeitweise konvulsivische Zuckungen über den ganzen Körper, besonders die Arme. Blutdruck 220/125 mm Hg. Normalurie bis Oligurie, massenhaft Eiweiß, Erythrocyten und Zylinder. Fixiertes spez. Gewicht 1010. Im Blute Rest-N von 96 auf 103 mg-% angestiegen, also fast konstant, NaCl von 580 auf 660 mg-% angestiegen. Schließlich Somnolenz, große Atmung. Exitus 1. V. 1919.

Kohlensäurebindungskurve (15. III. 1919):

CO_2-Spannung	28,6	68,4	129,1	214,8
CO_2-Kapazität	60,6	74,8	82,0	86,6
			80,1	

Den Übergang zur letzten Gruppe bildet ein Fall (21) von glomerulärer Schrumpfniere mit Hemiplegie und Bronchopneumonie, bei dem gegen Ende des Lebens starke, vorwiegend nächtliche Atemnot auftrat. Die Kohlensäurebindungskurve verläuft dicht unterhalb des normalen Bezirkes, vermag aber durch diese ihre noch nahezu normale Lage die anfallsweise Dyspnöe nicht ausreichend zu erklären. Diese ist vielmehr offenbar vorwiegend auf dieselben Faktoren zurückzuführen wie in den beiden vorangehenden Fällen.

21. K. Ha. ♀, 47 Jahre alt. 5. X. 1918 Hemiplegie links. Befund 6. X. 1918: Blutdruck 245/150 mm Hg. Oligurie, starke Albuminurie, Cylinder, reichlich

Erythrocyten. Rest-N 54 mg-%. Nach vorübergehender Besserung ab 18. XI. Brechreiz, Appetitlosigkeit, Schwindel. Anstieg des Rest-N bis auf 214 mg-%. Seit Anfang Dezember vorwiegend nächtliche starke Atemnot. Kachexie. Exitus 18. XII. 1918.

Kohlensäurebindungskurve (4. XII. 1918):

CO_2-Spannung	58,9	123,2	176,9	220,0
CO_2-Kapazität	52,0	66,0	72,8	79,9
			73,7	81,6

Den bisher geschilderten 8 Fällen steht nun nach dem Verhalten der Kohlensäurebindungskurve eine zweite große Gruppe von 7 Fällen scharf geschieden gegenüber, bei denen die Dyspnöe mit einer meist recht erheblichen Hypokapnie des Blutes einhergeht. Diese Hypokapnie ist in allen hierher gehörigen Fällen so hochgradig, daß sie den beobachteten Grad von Dyspnöe zu erklären vermag. Eigenartig ist unter diesen Fällen der erste (Nr. 22), eine Ödemnephritis mit hoher Eiweißausscheidung, bei dem mehrfach unter Nierenkoliken kleine Harnsäurekonkremente abgingen. Er war wiederholt lange Zeit in klinischer Beobachtung und zeigte im Juli 1917, als erhebliche Dyspnöe bestand, eine ganz schwere Hypokapnie. Die Bindungskurve verläuft etwa entsprechend der strichpunktierten Kurve der Abb. 1. Bei der Wasserstoffzahl 6,80 zeigt sie eine Unstetigkeit. Die reduzierte Wasserstoffzahl beträgt etwa 7,12. 9 Monate später, als keine nennenswerte Atemnot bestand, ist dagegen der Verlauf der Kohlensäurebindungskurve ein vollkommen abweichender und bisher nicht beschriebener. Die Kurve verläuft ganz weit, etwa 10—12 Vol.-% oberhalb des normalen Bindungsbezirkes, das Blut ist also stark hyperkapnisch. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,50. Der Umschlag von dem einen in das andere krankhafte Extrem ohne darauf gerichtete Therapie ist von hohem Interesse.

Der nächste Fall (23), eine Ödemnephritis mit hochgradiger Dyspnöe, Atemfrequenz 28, hat gleichfalls ausgesprochene Hypokapnie, die Kurve verläuft rund 6 Vol.-% unterhalb des normalen Bereichs. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,24. Im Falle 24 verläuft die Bindungskurve zu Beginn der Beobachtung etwa ebenso tief wie im Falle 23, obgleich die deutliche Dyspnöe klinisch nicht ganz so schwer erscheint wie in ersterem Falle. Die reduzierte Wasserstoffzahl ist auch hier 7,24. Während der Behandlung sinkt die Bindungskurve noch tiefer ab, obgleich die Dyspnöe zurückgeht. 2 Monate nach der ersten Beobachtung läuft die Bindungskurve um ca. 14 Vol.-% unterhalb der Norm, also wenig höher als die beiden niedrigen Kurven der Abb. 1. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,17.

Im Falle 25, der in schwerster Niereninsuffizienz mit 258 mg-% Rest-N zugrunde ging, wurde ausnahmsweise die Kohlensäurebindung im Serum bestimmt. Sie erwies sich als stark herabgesetzt. Der Fall 26 zeigte eine zunächst mäßige Hypokapnie, reduzierte Wasserstoffzahl 7,28. Gleichzeitig mit der Dyspnöe nahm auch der Grad der Hypokapnie

im Laufe der Beobachtung zunächst noch erheblich zu, die reduzierte Wasserstoffzahl sank bis auf 7,16, um dann im Verlauf der nächsten Monate wieder etwas anzusteigen, so daß 14 Tage ante exitum die Wasserstoffzahl 7,23 gemessen wurde. Die letzten beiden Fälle (27 und 28) behalten dagegen während langer Zeiten die Lage ihrer Kohlensäurebindungskurve innerhalb der Breite der Messungsfehler unverändert bei. Bei recht erheblicher Dyspnöe hat Fall 27 zu Beginn der Beobachtung und am Ende, 2 Tage ante exitum, eine Bindungskurve, die 10—12 Vol.-% unterhalb der Norm verläuft. Bei der zweiten Bindungskurve sind die bei höherer Spannung gefundenen Werte eher etwas niedriger als zu Beginn, die Pufferung der Kurve ist also etwas geringer, wohl durch zunehmende Anämie. Die reduzierte Wasserstoffzahl ist 7,20. In beiden Kurven tritt eine Unstetigkeit auf, in der ersten bei der Wasserstoffzahl 6,79, in der zweiten etwas später, die die Lage der Kurve um 16 Vol.-% im ersten, um etwas weniger im zweiten Falle hebt. Ebenso hat Fall 28 im Beginn der Beobachtung und einen Tag ante exitum fast identische Kohlensäurebindungskurven, die entsprechend der klinisch hervortretenden Dyspnöe etwa 4—6 Vol.-% unterhalb des normalen Bezirkes verlaufen. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,27 bzw. 7,26.

22. K. Eck. ♂, 26 Jahre alt. Seit Jahren chron. Ödemnephritis mit Oligurie. Albuminurie 5—15‰, reichlich Zylinder und Erythrocyten. Blutdruck um 200 mm Hg. 1917 nervöse Störungen, Kopfschmerz, Magen-Darmstörungen, Dyspnöe. Rest-N 1917 49 mg-%, 1918 108 mg-%. Blutbild: Hb. 97%, Rote 4,2 Mill. Refraktometerwert 5,96—6,82% Eiweiß.

Kohlensäurebindungskurve (26. VII. 1917):

CO_2-Spannung	21,7		34,4	102,5
CO_2-Kapazität	22,6		25,7	43,2
				41,4
				Knick p_H 6.80

Kohlensäurebindungskurve (12. III. 1918):

CO_2-Spannung	16,4	28,7	45,2	148,2
CO_2-Kapazität	55,6	69,6	82,5	96,9
	58,5			

23. Th. Unt. ♀, 16 Jahre alt. Glomerulonephritis. Mitralinsuffizienz und -stenose. Seit Sommer 1914 nach Polyarthritis Ödeme. Urin oft spärlich, rot. Befund 6. VI. 1917: Sehr starke Ödeme, Ascites. Cyanose, hochgradige Dyspnöe. Atemfrequenz 28. Systolisches Mitralgeräusch. Leber handbreit unter Rippenbogen. Blutdruck 110/60. Oligurie, Eiweiß 3‰, granulierte und hyaline Zylinder, Erythrocyten. Wassermann ++++.

Kohlensäurebindungskurve (8. VI. 1917):

CO_2-Spannung	26,7	34,0	41,3
CO_2-Kapazität	37,8	39,7	41,4
	36,3		39,8

24. J. Die. ♂, 66 Jahre alt. Schon lange chronisches Nierenleiden. Ödeme, Schweratmigkeit, Kopfweh, Brechreiz, Mattigkeit. Befund: Etwas frequente, vertiefte Atmung, 24—28 Atemzüge. Blutdruck 170/75 mm Hg. Polyurie, Fixation des spez. Gewichts um 1010, Konzentrationsunfähigkeit, Albuminurie 3½‰,

Cylinder und Erythrocyten. Rest-N 77,3, später 49 mg-%. Augenhintergrund normal. Nach Ausscheidung der Ödeme (5 kg) entlassen 4. VIII. 1917.

Kohlensäurebindungskurve:	14. V. 17		10. VII. 17		
CO_2-Spannung	32,5	36,4	13,2	22,6	41,3
CO_2-Kapazität	37,4	38,2	22,9	27,8	34,4
	39,0		20,7		

25. A. Ab. ♀, 36 Jahre alt. Ödeme, wachsende, jetzt hochgradigste Atemnot. Befund 7. XII. 1917: Starke Cyanose, mäßige Ödeme. Orthopnöe, 16—20 Atemzüge. Renale Herzhypertrophie, Blutdruck 240/100 mm Hg. Albuminurie. Zunehmende Benommenheit, am 9. XII. kurze klonische Zuckungen. Rest-N 258 mg-%. Refraktometerwert 10,1% Eiweiß. Hb. 55%, Rote 3,57 Mill. 10. XII. Exitus. Autoptisch: Sekundäre Schrumpfniere mit Sklerose.

Kohlensäurebindungskurve des Serums (10. XII. 1917):

CO_2-Spannung	12,0	29,8	59,9
CO_2-Kapazität	19,1	26,4	40,2

26. G. Ma. ♂, 46 Jahre alt. Februar 1917 Polyarthritis. Atemnot, Herzklopfen. Befund 16. V. 1917: Geringe Ödeme, mäßige Dyspnöe, Atemfrequenz 26. Kein Klappenfehler. Mäßige Stauungsleber. Blutdruck 210/120 mm Hg. Bald Polyurie, Albuminurie 2‰, Zylinder und Erythrocyten. Augen: In der linken Macula Reste alter Blutungen. Mürrisches Wesen. Anfang Juni subjektiv und psychisch besser, gute Diurese. August wieder zunehmende Atemnot, Orthopnöe. Rückgang der Diurese. 9. X. 1917 Exitus. Autoptisch: Sekundäre Schrumpfniere.

Kohlensäurebindungskurve:	18. V. 17		5. VI. 17		
CO_2-Spannung	14,9	35,9	33,2	38,9	45,3
CO_2-Kapazität	39,5	43,3	34,8	32,4	33,2
	38,1		32,6		

Kohlensäurebindungskurve (25. IX. 1917):

CO_2-Spannung	11,2	40,8	120,3	197,2
CO_2-Kapazität	29,4	39,5	58,2	65,7
	28,4		58,5	62,8

27. F. Hir. ♂, 30 Jahre. Seit 11 Jahren Nierenleiden nach Gelenkrheumatismus. Neuerdings Ödeme, anfallsweise Herzbeklemmung. Befund 13. V. 1918: Geringes Ödem, unbedeutende Cyanose und Dyspnöe. Letztere später zunehmend, Atemfrequenz 26—30, sub finem nur 16. Pleuratranssudate. Perikardiales Reiben. Blutdruck 200/150 mm Hg. Blutbefund: Hb. 45%, Rote 3,6 Mill. Refraktometerwert 7,52% Eiweiß. Rest-N 185, auf 283 mg-% ansteigend. Normalurie, später Oligurie. Albuminurie, Cylindrurie. Hochgradige Erregung, motorische Unruhe, Epistaxis, Kopfschmerz. 9. VI. 1918 Exitus. Autoptisch: Glomeruläre Schrumpfniere, Pneumonie, Perikarditis.

Kohlensäurebindungskurve (27. IV. 1918):

CO_2-Spannung . . .	26,1	45,2	90,7	158,4	222,1
CO_2-Kapazität . . .	29,4	39,3	48,6	66,5	73,3
	32,6		Knick $p_H = 6{,}79$		

Kohlensäurebindungskurve (7. VI. 1918):

CO_2-Spannung . . .	25,6	38,6	92,2	144,9	198,7
CO_2-Kapazität . . .	28,0	35,9	42,4	50,4	68,8
				51,8	
			Knick $p_H = 6{,}71$		

28. B. Fei. ♀, 30 Jahre alt. Oktober 1917 Angina. Bald Kurzatmigkeit, Herzklopfen. Befund 5. XI. 1917: Geringes Gesichtsödem, keine Dyspnöe. Blutdruck

195/115 mm Hg. Blutbefund: Hb. 53%, Rote 4,6 Mill. Refraktometerwert 7,89% Eiweiß. Rest-N 70 mg-%. Anstieg schließlich auf 203 mg-%. Normalurie, Eiweißtrübung, einzelne Zylinder. Nach Tonsillektomie vorübergehende Besserung. Später motorische Unruhe, große Atmung, Frequenz 30. Erbrechen, Somnolenz, Koma. 28. XII. 1917 Exitus. Autoptisch: Glomeruläre Schrumpfniere, renale Herzhypertrophie, Lungenödem, Bronchopneumonie, frische Pleuritis fibrinosa.

Kohlensäurebindungskurve (10. XI. 1917):

CO_2-Spannung	10,2	30,5	57,1	141,2
CO_2-Kapazität	36,3	41,3	48,8	64,9
	35,0	43,3		63,8

Kohlensäurebindungskurve (27. XII. 1917):

CO_2-Spannung	10,5	28,2	52,2	128,9
CO_2-Kapazität	28,8	40,5	44,8	64,7
	27,7			63,4

Bei den chronischen Glomerulonephritiden finden sich also dieselben Gruppen wieder wie bei den akuten. 2 Fälle ohne Dyspnöe und ohne Zeichen von Niereninsuffizienz ergaben Kohlensäurebindungskurven, die in den normalen Bezirk fallen. Bei 5 weiteren Fällen mit teilweise sehr erheblicher Dyspnöe war die Bindungskurve ebenfalls normal. Nur einer von diesen Fällen kann vielleicht als pulmonale Dyspnöe aufgefaßt werden, 2 weitere zeigten den Typus des „nephrotischen Einschlags" mit mäßig erhöhtem Reststickstoff. Die letzten beiden zeigten neben Erscheinungen von Niereninsuffizienz deutliche cerebrale Erscheinungen. Bei diesen 5 Fällen liegt also die Ursache der Dyspnöe nicht in einer Hypokapnie des Blutes. In einem Übergangsfalle ist die Hypokapnie zu geringfügig, um die beträchtliche Dyspnöe zu erklären. In der letzten großen Gruppe stehen schließlich 7 Fälle, bei denen eine beträchtliche Hypokapnie des Blutes nachweisbar ist. Diese reicht aus, um die bestehende Atemnot zu erklären.

V. Arteriolosklerotische Schrumpfnieren (Nierensklerosen).

Im ganzen wurden 22 Fälle untersucht, die sich nach dem Grade der Nierenfunktionsstörung gliedern. Dadurch ergibt sich eine sehr ähnliche Gruppeneinteilung wie bei den Glomerulonephritiden.

a) Arteriolosklerotische Schrumpfnieren ohne Niereninsuffizienz.

Unter dem verfügbaren sehr reichen Material wurden zur Untersuchung nur einige wenige Fälle herangezogen, da bei der Geringfügigkeit der Nierenfunktionsstörung und der klinischen Erscheinungen von vornherein pathologische Kohlensäurebindungskurven wenig wahrscheinlich waren. Diese Erwartung wurde durch die Untersuchung bei 3 Fällen vollkommen bestätigt. Bei allen lagen die Kohlensäurebindungskurven des Blutes im normalen Bezirke. Alle hatten erhöhte Blutdruck-

werte und renale Herzhypertrophie. Albuminurie fehlte oder war geringfügig. Der Reststickstoff des Blutes zeigte normale oder unbedeutend erhöhte Werte. Auch die Ergebnisse anderer Funktionsprüfungen der Nieren wichen nicht von dem normalen Verhalten ab. Im ersten Falle (29) war die reduzierte Wasserstoffzahl 7,35, im zweiten (30) 7,31. Der letzte der 3 Fälle wurde sehr lange, über 7 Monate beobachtet. Er bekam schließlich Zeichen von Niereninsuffizienz, an denen er zugrunde ging. Doch war auch sub finem der Reststickstoff nur mäßig erhöht und die Kohlensäurebindungskurve blieb normal. Allein das starke Schwanken in der Höhenlage der Bindungskurve zeigt, daß der Organismus Schwierigkeiten hatte, seine Eukapnie zu wahren. Bei der zweiten Untersuchung, 4 Monate nach Beginn der Beobachtung, sank dementsprechend die Kurve bis dicht unter die unterste normale Grenze herab, zu einer Zeit, wo ein Anstieg des Rest-N noch nicht vorhanden war. Reduzierte Wasserstoffzahl erst 7,34, dann 7,30, schließlich 7,36.

29. E. Wei. ♀, 46 Jahre alt. Cholelithiasis (abgeklungen). Thyreogene Fettsucht. Nierensklerose. Gewicht 81,7 kg. Größe 1,57. Blutdruck 200/120 mm Hg. Rest-N 22,4 mg-%. Kochsalz 592 mg-%. Wasser- und Konzentrationsversuch normal erledigt. E —.

Kohlensäurebindungskurve (11. X. 1917):

CO_2-Spannung . .	9,6	33,6	
CO_2-Kapazität . .	41,3	52,2	
		52,8	

30. E. Ge. ♀, 63 Jahre alt. Nierensklerose. Emphysem. Pleuraschwarte. Arhythmia perp. Arbeitsdyspnöe, zeitweise Knöchelödem, Schwindel. Blutdruck 240/120. Rest-N 29. NaCl 547 mg-%. Wasserversuch glatt erledigt. E — bis Spur. Einzelne hyaline und granulierte Zylinder. Zeitweilig ausgesprochen herzinsuffizient.

Kohlensäurebindungskurve (17. IX. 1917):

CO_2-Spannung	9,2	40,2	123,0	193,0
CO_2-Kapazität	33,0	47,6	67,7	75,1
		49,7		74,1

31. H. Maxb. ♂, Nierensklerose. Herzinsuffizienz. Mitte 1916 Druck im Leib, Anfang 1917 Herzklopfen, Atemnot, Beinödem. Befund: Stauungsleber. Blutdruck 190/110 mm Hg. Rest-N 30, schließlich bis 87 mg-%. NaCl 560 mg-%. Im Urin etwas Eiweiß, keine Cylinder. Herzinsuffizient, auf Digitalis kompensiert. Später schlechter, Exitus 20. XII. 1917.

Kohlensäurespannung:	15. V. 17		14. IX. 17		
CO_2-Spannung	35,4	12,0	37,4	122,4	198,6
CO_2-Kapazität	52,2	32,2	47,4	63,2	69,4
	49,9	30,3	46,2		71,2

Kohlensäurebindungskurve (18. XII. 1917, 2 Tage ante exitum):

CO_2-Spannung	7,0	26,1	129,3
CO_2-Kapazität	41,5	51,2	72,8
	40,3	48,9	

Hier schließt sich ein Fall an (32), bei dem es infolge von Harnretention bei Prostatahypertrophie und Meningomyelitis luetica zu

Zeichen leichter Niereninsuffizienz gekommen war. Diese ließen sich durch Einlegen eines Dauerkatheters beseitigen, zumal sich nach antiluetischer Behandlung die Harnretention erheblich besserte. Der Patient hatte zu Beginn im Serum 62 mg Rest-N und 700 mg NaCl gehabt. Die Werte sanken auf 40 bzw. 637 mg-%. Der Blutdruck wurde normal. Doch war auch um diese Zeit, obgleich keine klinisch erkennbare Dyspnöe bestand, die Kohlensäurebindungskurve noch unter die Norm herabgesetzt, durchschnittlich 4 Vol.-% zu niedrig. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,29.

32. F. C. ♂, 65 Jahre alt. Meningomyelitis luetica. Prostatahypertrophie. Harnretention. Schwindel, Mattigkeit, Ischuria paradoxa. Sensorium frei. Keine Ödeme. WaR. +++. Blutdruck 110/65.

Kohlensäurebindungskurve (21. V. 1919):

CO_2-Spannung . . .	22,3	48,7	109,9	182,6	249,3
CO_2-Kapazität . . .	37,0	50,3	58,1	65,5	72,2
	34,0				

b) Arteriolosklerotische Schrumpfnieren mit Niereninsuffizienz.

Unter den 18 untersuchten arteriolosklerotischen Schrumpfnieren mit deutlicher Niereninsuffizienz befindet sich eine Gruppe von 2 Fällen, bei denen der Rest-N deutlich, im ersten Falle (33) auf 163 mg-%, im zweiten (34) während der Beobachtung von 50 auf 191 mg-% ansteigend, erhöht war. Beide gingen im Laufe der Beobachtung zugrunde. Der erste war ausgesprochen herzinsuffizient und hatte dementsprechend bei Bewegungen mäßige Dyspnöe. Der zweite zeigte weder Dyspnöe noch sonstige urämische Erscheinungen. Bei beiden lag dementsprechend die Kohlensäurebindungskurve im normalen Bezirk, reduzierte Wasserstoffzahl im Fall 33 hoch, 7,39, im Fall 34 bei mit einem Abstand von 5 Tagen ausgeführten Bestimmungen beidemal identisch 7,35.

33. F. Pe. ♂, 60 Jahre alt. Mitte Januar 1918 Erbrechen ohne Übelkeit, Appetitlosigkeit, Gesichtsödem. Befund 19. I. 1918: Starke Ödeme, geringe Cyanose, Bewegungsdyspnöe. Blutdruck 190/120 mm Hg. Blutbefund: Rest-N von 163 auf 125 mg-% absinkend, NaCl von 565 auf 645 ansteigend. Oligurie, Eiweiß 3‰, keine Zylinder. Ende Februar motorische Unruhe, geistiger Verfall, Apathie. 15. III. Exitus.

Kohlensäurebindungskurve (24. I. 1918):

CO_2-Spannung	10,2	36,7	76,7
CO_2-Kapazität	39,3	61,3	74,7
	41,6		

34. Ma. S., Nierensklerose. Somnolent. Nie urämische Erscheinungen. Blut: Rest-N von 50 am 3. XI. auf 191 mg-% am 3. XII. ansteigend, Blut-NaCl niedrig, 472—502 mg-%. Exitus 3. XII. 1917.

Kohlensäurebindungskurve (28. XI. 1917):

CO_2-Spannung	12,1	31,2	59,5	137,9
CO_2-Kapazität	36,7	51,9	61,7	71,7
	36,1	49,1	62,9	70,6

Kohlensäurebindungskurve (3. XII. 1917):

CO_2-Spannung	8,6	29,2	61,6	137,2
CO_2-Kapazität	39,5	51,9	58,0	74,4
				71,3

Es folgt eine große Gruppe von 8 Fällen mit Zeichen ausgesprochenster Niereninsuffizienz. Bei der Mehrzahl derselben traten psychische Erscheinungen im Krankheitsbilde in den Vordergrund. Sie waren hochgradig erregt, schwer im Bett zu halten. Oft waren sie benommen, teilweise ausgesprochen somnolent. Starke motorische Unruhe und kurze Zuckungen der Glieder traten auf, aber keine Konvulsionen. Kopfschmerz, Schwindel, Erbrechen und Schlaflosigkeit sind vermerkt. Ganz besonders auffallend war bei diesen Kranken die hochgradige Dyspnöe, die vielfach Grade erreichte, wie sie bei keiner anderen Gruppe dieser Nierenkranken beobachtet wurde. Die Kranken saßen mit weit aufgerissenen Augen nach Luft ringend aufrecht im Bett. Durch diese auffallenden Krankheitserscheinungen boten sie ein erschütterndes und in höchstem Maße alarmierendes Zustandsbild.

Diesen schweren Atemstörungen entsprach nun keineswegs eine Hypokapnie des Blutes. Bei der Hälfte der Fälle verlief die Bindungskurve eukapnisch, bei den übrigen 4 lag sie zeitweilig oder dauernd hoch oberhalb des normalen Bindungsbezirkes. Es bestand also erhebliche Hyperkapnie. Das Verhalten des Blutes kann also nicht der Grund für die hochgradige Dyspnöe dieser Kranken gewesen sein.

35. M. Bl. ♂, 45 Jahre alt. Hochgradig erregt, keine Minute ruhig. Stark verwirrt, Gesicht ängstlich, verstört. Zeitweise somnolent. Schwerste Dyspnöe, besonders zu Beginn der Beobachtung. Bei der zweiten Blutuntersuchung Atemnot etwas geringer, etwas beschleunigt. Zunehmende Kachexie. Albuminurie. Zylinder. Rest-N 101, 128, 104 mg-%. Bei der ersten Blutuntersuchung enorme Hyperkapnie zur Zeit schwerster Dyspnöe, reduzierte Wasserstoffzahl 7,54. Die Kurve läuft ca. 20 Vol.-% oberhalb des normalen Bindungsbereichs. Bei der zweiten Blutuntersuchung Bindungskurve etwas tieferliegend, aber noch immer etwa 6 Vol.-% zu hoch. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,46. Exitus 23. VI. 1918.

Kohlensäurebindungskurve (4. IV. 1918; Abb. 1, gestrichelte Kurve. Tatsächliche Bestimmungen stehende Kreuze):

CO_2-Spannung	10,5	28,6	115,6
CO_2-Kapazität	52,2	80,9	100,1

Kohlensäurebindungskurve (14. VI. 1918):

CO_2-Spannung	28,3	44,5	123,4
CO_2-Kapazität	59,1	72,2	90,4
	57,4	69,8	

36. M. Pa. ♂, 56 Jahre alt. Nierensklerose. Reste rechtsseitiger Hemiplegie. Etwas große, tiefe Atmung. Unruhig, mühsam im Bett zu halten, steht oft auf. Sehr erregt, spricht dauernd. Blutdruck 150/80. Albuminurie. Auf Digitalis Polyurie. Rest-N (32 mg-%) und Blutkochsalz (600 mg-%) normal. Bei der ersten Blutuntersuchung beträchtliche Hyperkapnie. Die Bindungskurve verläuft etwa 8 Vol.-% oberhalb der oberen Grenze des normalen Feldes. Bei der zweiten Unter-

suchung hat sich die Kurve ein wenig gesenkt, ist nur noch ca. 4 Vol.-% zu hoch. Bei der dritten Untersuchung endlich verläuft die Kurve eukapnisch, 3—4 Vol.-% unterhalb des Oberrandes im Normalbezirk.

Kohlensäurebindungskurve (8. II. 1919):

CO_2-Spannung	25,2	60,5	130,1	201,5
CO_2-Kapazität	59,5	79,1	94,9	97,3
	60,5	80,5		96,5

Also starke Hyperkapnie. Kurve etwa 8 Vol.-% zu hoch. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,46.

Kohlensäurebindungskurve (15. II. 1919):

CO_2-Spannung	30,6	62,7	132,6	225,5
CO_2-Kapazität	60,2	76,1	91,1	100,4
			88,3	

Also starke Hyperkapnie, Kurvenverlauf nur unbedeutend niedriger als zuvor, etwa 4 Vol.-% zu hoch. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,44.

Kohlensäurebindungskurve (6. III. 1919):

CO_2-Spannung	31,3	76,5	156,5	237,6
CO_2-Kapazität	48,3	72,8	81,0	84,1

Also Eukapnie. Die Kurve verläuft auffallend schwach gepuffert etwa 4 Vol.-% unter dem Oberrande des Normalbezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,35.

37. J. Die. ♂, 56 Jahre alt. Februar 1917 Epistaxis, Müdigkeit, Kopfschmerz, Übelkeit, Schläfrigkeit. Befund 4. I. 1918: Leichte Cyanose, benommen, motorische Unruhe, wirft sich im Bett herum. Schreit laut hinaus, Zuckungen in Armen und Beinen. Starke Dyspnöe während der ganzen Dauer der Beobachtung unverändert. Normalurie, spez. Gewicht 1007. Albuminurie. Hyaline und granulierte Zylinder. Blutdruck 240/125 mm Hg. Blutbefund: Hb. 75%, Rote 3,4 Mill. Refraktometerwert 7,06—8,51% Eiweiß. Rest-N von 102 (5. I. 1918) auf 236 (28. I. 1918) mg-% ansteigend. Exitus 28. I. 1918. Autoptisch: Genuine Schrumpfniere ohne entzündliche Glomerulusveränderungen.

Kohlensäurebindungskurve (9. I. 1918): Abb. 1 punktierte Kurve. Tatsächliche Bestimmungen: liegende Kreuze.

CO_2-Spannung	12,5	26,9	67,1	147,6
CO_2-Kapazität	51,7	64,4	78,1	83,8
	52,2	62,7		

Also Hyperkapnie. Kurve etwa 5 Vol.-% oberhalb des Normalbezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,47.

Kohlensäurebindungskurve (21. I. 1918):

CO_2-Spannung	16,1	40,3	71,8	147,0
CO_2-Kapazität	38,0	60,5	66,6	74,8
				74,8

Also Eukapnie. Verlauf etwa in der Mitte des normalen Feldes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,38.

Kohlensäurebindungskurve (28. I. 1918): Abb. 1 punktierte Kurve. Tatsächliche Bestimmungen: Kreuzringe.

CO_2-Spannung	10,7	36,3	72,0	144,6	223,7
CO_2-Kapazität	37,2	48,4	58,4	72,4	85,4
	34,7			Knick	

Also Eukapnie, Kurve dicht oberhalb des Unterrandes des Normalbezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,31. Unstetigkeit ungefähr bei $p_H = 6{,}80$.

38. A. Spr. ♂, 53 Jahre alt. Befund 5. XII. 1918: Blutdruck 225/120 mm Hg. Keine Albuminurie. Kopfschmerz, Augenflimmern, Muskelzuckungen, Schweiße, manchmal Erbrechen. Zunehmende Atemnot, zeitweilig Oligurie. Blutbefund: Hb. 82%, Rote 4,25 Mill. Refraktometerwert 7,63% Eiweiß. Rest-N von 30 auf 60 mg-% ansteigend. NaCl 625 mg-%. Liquordruck 100. Zunehmende Benommenheit. Periodisches Atmen. Exitus 20. IX. 1918. Autoptisch: Genuine Schrumpfniere.

Kohlensäurebindungskurve (16. I. 1919):

CO_2-Spannung	19,0	58,1	117,0	184,5	263,1
CO_2-Kapazität	51,0	77,0	85,2	95,6	98,8
		78,2		94,0	

Also Hyperkapnie. Kurve etwa 6 Vol.-% zu hoch. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,46.

Kohlensäurebindungskurve (20. II. 1919):

CO_2-Spannung	28,4	63,9	132,9	201,2	240,1
CO_2-Kapazität	48,1	62,9	72,2	89,2	96,2
				Knick $p_H = 6{,}80$	

Also Eukapnie. Verlauf mitten im normalen Feld. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,35. Knick bei Wasserstoffzahl 6,80.

Kohlensäurebindungskurve (13. V. 1919):

CO_2-Spannung	27,4	63,4	132,8	190,9	234,1
CO_2-Kapazität	49,6	63,6	71,7	80,1	88,1
				Knick $p_H = 6{,}79$	

Also ein mit dem vorigen fast identischer Kurvenverlauf. Eukapnie. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,35. Knick bei Wasserstoffzahl 6,79.

39. J. Di. ♂, 50 Jahre alt. Nierensklerose. Multiple Erweichungsherde im Hirn. Frische Ponsblutung. Seit August 1917 Beklemmung, Herzklopfen, Ödem. Befund 24. IX. 1917: Hochgradige Dyspnöe, 24—36 Atemzüge, meist 30—32. Extreme Cyanose, hochgradige Ödeme. Erregt, verworren. Blutdruck 195/125 mm Hg. Auf Diuretin Polyurie, Ödemausscheidung. Eiweiß spur. Keine Cylinder. Ab Mitte Oktober somnolent, sehr unruhig. Periodisches Atmen. Exitus 10. XI. 1917.

Kohlensäurebindungskurve (12. X. 1917):

CO_2-Spannung	10,7	30,6	106,3	180,2
CO_2-Kapazität	43,4	55,3	73,1	80,8
	40,6			

Also Eukapnie, die Kurve läuft, auffallend wenig gepuffert, durch die Mitte des Normalbezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,36.

40. P. Hau. ♂, 54 Jahre alt. Lues. Nierensklerose. Aortenlues. Chron. Pneumonie l. h. u. Übelkeit. Zunehmende, schließlich hochgradige Dyspnöe. Somnolenz. Blutdruck 165/75 mm Hg. Rest-N 87,2 mg-%. Polyurie, fixiertes spez. Gew. Albuminurie. Cylindrurie. Exitus 13. IV. 1918.

Kohlensäurebindungskurve (14. XII. 1917):

CO_2-Spannung	11,0	30,7	61,3	146,6
CO_2-Kapazität	39,4	46,5	65,0	77,9
	42,5			77,6

Also Eukapnie. Die Kurve läuft, etwas schwach gepuffert, durch die Mitte des normalen Bindungsbezirkes. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,36.

41. P. Si. ♂, 49 Jahre alt. Befund 19. II. 1918: Blutdruck 230/150 mm Hg. Polyurie, Hyposthenurie, später Oligurie. Starke Albuminurie. Blutbefund: Hb. 50%, Rote 3,3 Mill. Refraktometerwert 7,96% Eiweiß. Rest-N 80, bis 102 mg-% ansteigend. Erbrechen, Kopfschmerz, Übelkeit. Neuroretinitis albuminurica. Ab 13. III. profuse blutige Durchfälle. Zunehmende starke Atemnot. 14. IV. 1918 Lungenödem. Exitus. Autoptisch: Nierensklerose, Aortensklerose. Stauungsorgane. Ödem des Darms. Hämorrhagien im Rectum. Bronchopneumonie r. u.

Kohlensäurebindungskurve (20. II. 1918):

CO_2-Spannung	13,8	47,9	135,3	224,4
CO_2-Kapazität	43,3	58,1	73,8	82,5
	41,2			

Also Eukapnie. Kurvenverlauf dicht unter der Mitte der Norm. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,34.

42. F. Häu. ♂, Lues. Sklerose. Dyspnöe.

Kohlensäurebindungskurve (8. V. 1919):

CO_2-Spannung	23,0	54,6	135,2	186,5	260,9
CO_2-Kapazität	47,1	56,8	71,3	79,9	89,1
		57,8	Knick $p_H = 6{,}79$		

Also Eukapnie. Kurvenverlauf dicht unter der Mitte der Norm. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,33. Unstetigkeit bei Wasserstoffzahl 6,79.

Als letzte Gruppe unter den arteriolosklerotischen Schrumpfnieren schließen sich nochmals 8 Fälle an, bei denen durchweg klinisch ebenfalls Atemnot vorhanden war. Diese erreichte nicht immer auch nur annähernd so hohe Grade wie bei den Fällen der vorangehenden Gruppe. Doch war sie bei den zuletzt aufgeführten Fällen, von Fall 47 ab, ebenfalls recht hochgradig. Niemals wurde bei diesen Fällen ausgesprochen periodisches Atmen bemerkt. Im allgemeinen hielt die Schweratmigkeit gleichmäßiger an als in den Fällen der letzten Gruppe, doch war namentlich bei Fall 43 und 48 die Atemnot bei Nacht besonders hochgradig. Bei den Fällen dieser Gruppe ergab nun die Blutuntersuchung durchweg im Gegensatz zur vorangehenden Gruppe das Bestehen einer deutlichen Hypokapnie, deren Hochgradigkeit, soweit sich darüber ein Urteil abgeben läßt, im allgemeinen dem Grade der Hypokapnie entsprach. Nur der Fall 43 fällt aus dem Rahmen. Bei ihm ist die Hypokapnie sehr geringgradig, die Bindungskurve verläuft nur etwa 2—3 Vol.-% unterhalb der Norm, die reduzierte Wasserstoffzahl ist 7,29. Trotzdem war bei ihm die Dyspnöe sehr schwer. Der Fall ist demnach offenbar als ein Grenzfall zu der vorangehenden Gruppe zu betrachten.

Fall 44, der ohne nennenswerte Dyspnöe mit Eukapnie eingetreten war, wurde mit Eintritt der Hypokapnie zunehmend dyspnoisch. Während die reduzierte Wasserstoffzahl erst 7,33 betragen hatte, sank sie später auf 7,23. Die Bindungskurve verlief rund 7 Vol.-% zu tief. Fall 45 hat nur mäßige Dyspnöe und eine Kohlensäurebindungskurve, die nur 3—4 Vol.-% zu tief liegt. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,28.

Wesentlich tiefer liegt die Bindungskurve bei den folgenden Fällen, schon beim nächsten (46) 6—8 Vol.-% zu tief. Reduzierte Wasserstoffzahl 7,22. Bei Fall 47 und 48 fehlen schon etwa 12 Vol.-% zur Norm, die reduzierte Wasserstoffzahl ist 7,20 und 7,16. Der nächste Fall (49) verläuft gar 15—25 Vol.-% zu tief, reduzierte Wasserstoffzahl 7,09. Und Fall 50 endlich bietet die schwerste Hypokapnie unter allen überhaupt beobachteten Fällen. Seine Bindungskurve verläuft etwa 33 Vol.-% zu niedrig. Das Blut vermag nur noch ganz minimale Kohlensäuremengen zu binden und wegen des flachen Verlaufs der Bindungskurve bei den im Blute möglichen Kohlensäurespannungen kann das Blut auch in der Volumeinheit nur außerordentlich geringe Kohlensäuremengen befördern. Die reduzierte Wasserstoffzahl nähert sich dem Neutralpunkt (6,80) bedenklich, sie beträgt 6,87. Schon bei Kohlensäurespannungen von etwa 55 mm, die im Gewebe sicher überschritten werden, beginnt dieses Blut tatsächlich sauer zu reagieren. Daß ein solcher Zustand mit dem Leben unvereinbar ist, versteht sich von selbst.

43. R. Ba. ♂, 42 Jahre alt. Aortenlues. Aorteninsuffizienz. Hydrothorax. Bronchopneumonie. Nierensklerose. Seit Juli 1917 hochgradige Atemnot bei kleinen Anstrengungen und besonders nachts, muß ans Fenster. Starke Ödeme. Befund 24. IX. 1917: WaR. +++. Hochgradige Ödeme, leichte Cyanose. Sehr starke Dyspnöe. Blutdruck 205/65 mm Hg. Eiweißspur. Ziemlich viele Zylinder. Oligurie, bald Ausscheidungspolyurie. Rest-N 48 mg-%. Auch nach Ausscheidung der Ödeme Polyurie, fixiertes spez. Gewicht um 1010. 29. XII. 1917 gebessert entlassen.

Kohlensäurebindungskurve (10. X. 1917):

CO_2-Spannung	11,0	37,9	125,8	202,2
CO_2-Kapazität	28,2	46,6	60,4	68,7
	27,1			

44. J. Schm. ♂, Bleiarbeiter. 56 Jahre alt. Nierensklerose im Stadium der Insuffizienz. Mitte März 1917 Ödeme, Arbeitsdyspnöe. Blutdruck 170/85. Urin: Polyurie, spez. Gew. um 1010. Eiweißspur, spärliche Zylinder. Wasser- und Konzentrationsversuch sehr schlecht erledigt. Retinitis albuminurica.

Kohlensäurebindungskurve:

	7. V. 17	12. VI. 17				
CO_2-Spannung	41,8	19,5	23,1	26,7	30,3	34,0
CO_2-Kapazität	53,1	30,0	36,5	35,6	37,5	39,1
		33,0		35,8	38,4	

45. Ge. ♂. Stille Urämie. Zeitweise starke nächtliche Atemnot.

Kohlensäurebindungskurve (17. VII. 1919):

CO_2-Spannung	28,3	65,9	141,7	206.6
CO_2-Kapazität	40,4	52,0	62,1	69,9
	41,5			72,1

46. F. Ni. ♂, 58 Jahre alt. Urämie. Dyspnöe. Vertiefte, nicht sehr frequente Atmung, somnolent. Polyurie, fixiertes spez. Gew. 1010. Albuminurie 4‰. Blutdruck 240/130 mm Hg. Exitus August 1919.

Kohlensäurebindungskurve (31. VII. 1919):

CO_2-Spannung	29,5	68,4	141,5	170,1
CO_2-Kapazität	36,3	51,9	61,2	62,7
				64,2

47. A. Wie. ♂, 48 Jahre alt. Nierensklerose. Urämie. Seit Frühjahr 1918 Ödeme, heftige Atemnot. Blutdruck 200/115 mm Hg. Polyurie, fixiertes spez. Gewicht 1008. Albuminurie, Zylinder. Rest-N von 47 auf 84 mg-% ansteigend. Dösig, schläft während des Gesprächs ein. Sehr erregt, läuft viel herum. Dyspnöe, Frequenz 22—24. 10. XII. Zuckungen, Krämpfe, Exitus. Autoptisch: Sehr kleine Schrumpfnieren. Hirnödem. Bronchopneumonie.

Kohlensäurebindungskurve (9. XII. 1918):

CO_2-Spannung	32,2	110,3	163,6	200,6	231,4
CO_2-Kapazität	32,3	49,5	58,4	66,8	71,8
	30,1	50,4	Knick?		

48. Br. ♂, Nierensklerose, Herzinsuffizienz, Ödeme. Dyspnöe. Nächtliche Anfälle schwerster Atemnot.

Kohlensäurebindungskurve (10. VII. 1919):

CO_2-Spannung	27,1	62,6	143,1	183,5	248,0
CO_2-Kapazität	25,7	41,6	45,9	49,1	54,3
			47,1		

49. J. Schn. ♂, Urämie. Ziemlich moribund. Blutdruck 215 mm Hg.

Kohlensäurebindungskurve (4. IV. 1918): Abb. 1 gestrichelte Kurve. Tatsächlich bestimmte Punkte = Ringe.

CO_2-Spannung	12,8	54,5	124,5	201,1
CO_2-Kapazität	18,6	31,7	40,2	42,6
	19,5		39,1	

50. A. Wo. ♂, 37 Jahre alt. Gicht. Nierensklerose. Urämie. Matt, appetitlos, Ödeme, Nasenbluten. Blutdruck 187/105 mm Hg. Polyurie, spez. Gewicht 1006. Albuminurie. Rest-N von 123 auf 160 mg-% ansteigend. Neuroretinitis albuminurica. Hochgradige Atemnot, sitzt auf. Atmung tief und stark beschleunigt, laut röchelnd. 23. VII. 1917 Exitus. Autoptisch: Arthritis urica. Starke Nierenschrumpfung. Stauungsorgane.

Kohlensäurebindungskurve (19. VII. 1917): Abb. 1 Ausgezogene Kurve. Tatsächliche Bestimmungen: Punktpfeile ↕.

CO_2-Spannung	10,5	21,8	33,0	44,3	121,6
CO_2-Kapazität	9,3	12,6	16,4	18,3	26,9
			15,5		

Auch bei den arteriolosklerotischen Schrumpfnieren finden sich also bezüglich der Kohlensäurebindungsfähigkeit des Blutes dieselben Gruppen wieder wie bei den akuten und chronischen Glomerulonephritiden. 3 gutartige arteriolosklerotische Nierenstörungen ohne Zeichen von Niereninsuffizienz verhalten sich wie Gesunde. Aber auch 2 genuine Schrumpfnieren mit deutlichen Zeichen ungenügender Nierenarbeit, jedoch ohne Schweratmigkeit, ergaben normale Kohlensäurebindungskurven. Bei 1 Kranken mit Harnretention durch Prostatahypertrophie und Rückenmarksleiden zeigte die Blutuntersuchung eine ungenügende Ausscheidung harnfähiger Substanzen und geringe Hypokapnie des

Blutes. Bei 8 dekompensierten arteriolosklerotischen Schrumpfnieren, z. T. mit Zeichen schwerster Niereninsuffizienz, bestand hochgradige Dyspnöe ohne eine Herabsetzung der Kohlensäurebindungsfähigkeit des Blutes. Im Gegenteil war bei 4 dieser Patienten die Kohlensäurebindungskurve gerade während der Zeiten hochgradiger Dyspnöe z. T. beträchtlich, bis zu 20 Vol.-%, über die obere Grenze der Norm erhöht. In einer weiteren Gruppe von abermals 8 Fällen war schließlich die Kohlensäurebindungsfähigkeit des Blutes unter die Norm herabgesetzt, im extremsten Falle um über 30 Vol.-%, so daß das Blut unter den im Körper herrschenden Verhältnissen nur etwa 15 Vol.-% Kohlensäure zu binden vermochte. Die Schwere der Dyspnöe ging bei den 9 Fällen dieser Gruppe im ganzen dem Grade der Hypokapnie parallel.

Bei der Untersuchung der Kohlensäurebindungskurve des Blutes von 50 Nierenkranken haben sich also in zahlreichen Fällen grobe Abweichungen von der Norm ergeben, die beweisen, daß diese Kranken nicht imstande sind, das Gleichgewicht zwischen Basen und Säuren in ihrem Körper aufrechtzuerhalten. Bei nahezu der Hälfte der Fälle stehen zur Bindung der Kohlensäure abnorm wenige basische Valenzen zur Verfügung, es besteht also eine Acidose des Blutes im Sinne von Naunyn. Aber bei 5 anderen Kranken fand sich die entgegengesetzte Störung, eine Hyperkapnie des Blutes.

Die Erklärung dieser Befunde scheint naheliegend. Von den im Körper gebildeten Säuren wird die Kohlensäure durch die Lungen, alle nicht gasförmigen Säuren vorwiegend durch die Nieren ausgeschieden. Zur Neutralisation stehen dem Körper die in der Nahrung zugeführten basischen Valenzen und außerdem das im Körper gebildete Ammoniak zur Verfügung. Bei Säureüberschuß der Nahrung wird der Urin des Gesunden stark sauer, bei Basenüberschuß alkalisch. Die kranke Niere verliert, wie wir wissen, diese normale Variationsbreite mehr und mehr. Die Reaktion des Urins nähert sich ebenso wie das spezifische Gewicht, die Gefrierpunktserniedrigung und der Gehalt an den verschiedensten Salzen der des Blutes. Eine geringe Zunahme der nichtflüchtigen Säuren des Blutes wird nicht mehr wie beim Normalen mit einer starken Zunahme des Säureüberschusses im Urin beantwortet [Begun und Münzer[1])], sondern die sauren Valenzen werden sehr verzögert beseitigt. Zugeführtes Alkali wird retiniert, dem Nierenkranken müssen bis 80 g Natr. bicarbonic. zugeführt werden, ehe der Urin gegen Lackmus alkalisch reagiert. Die Hypokapnie der Nierenkranken kann man also als die Folge dieser aus Funktionsprüfungen der Niere bekannten Störung der normalen Variationsbreite auffassen. Sie entsteht, weil die kranke Niere nicht mehr imstande ist, einen ausreichend sauren Urin hervorzubringen, der den Überschuß der sauren Valenzen aus dem Körper entfernt.

[1]) A. Begun und E. Münzer, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **20**, 1. 1919.

Die Hypokapnie der Nierenkranken entsteht nach dieser Vorstellung auf einer etwas anderen Grundlage als die Hypokapnie bei experimenteller Säurevergiftung und als die Hypokapnie bei Diabetes mellitus. Bei letzterer Krankheit werden im Körper infolge der Stoffwechselstörung abnorme Mengen pathologischer Säuren gebildet, die nicht bis zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden und deshalb bei der Ausscheidung ihren Weg durch die Nieren nehmen müssen. Die Hypokapnie des Zuckerkranken entsteht also, weil die gesunde Niere nicht imstande ist, neben den normalen auch noch große Mengen krankhaft entstandener saurer Valenzen auszuscheiden. Der Nierenkranke dagegen wird hypokapnisch, weil seine kranke Niere nicht ausreicht, um den normalerweise zu bewältigenden mäßigen Säureüberschuß durch den Urin zu beseitigen.

Für diese Betrachtungsweise spricht die Tatsache, daß keineswegs bei allen Nierenkranken eine Hypokapnie nachweisbar ist. Auch unter den Fällen mit schwerer Niereninsuffizienz findet sich eine große Anzahl mit normaler Kohlensäurebindungskurve des Blutes. Noch gewichtiger sprechen zugunsten dieser Auffassung die 5 Fälle mit ausgesprochener Hyperkapnie des Blutes, die ebenfalls zum Teil auch andere Zeichen ausgesprochener Niereninsuffizienz aufwiesen. Sieht man nämlich die Veränderung der Alkalireserve des Blutes als den Ausdruck des Versagens einer regulatorischen Nierenfunktion an, so muß man eine Hyperkapnie des Blutes erwarten, sobald statt des bei gemischter Nahrung gewöhnlichen Säureüberschusses ein Basenüberschuß geboten wird. Es ist offenbar kein Zufall, daß wir Hyperkapnie bei Nierenkranken nicht schon im Beginn unserer Beobachtung gefunden hatten. Der erste Fall (37) kam im Januar 1918 zur Beobachtung, der letzte unserer Fälle stammt aus dem Februar 1919. Infolge des Krieges war gerade in dieser Zeit die Möglichkeit gegeben, mit der verfügbaren Nahrung einen Basenüberschuß zuzuführen. Die Bevölkerung war damals vorwiegend auf frische Gemüse und Kartoffeln angewiesen, die Basenüberschuß besitzen, während die Nahrungsmittel mit Säureüberschuß, wie Fleisch, Mehl und Brot, ebenso wie das in Bayern übliche Bier teils rationiert, teils überhaupt nicht erhältlich waren. Die Hyperkapnie dieser Fälle wäre also der Ausdruck eines Versagens der Niere gegenüber den Anforderungen einer basenreichen Ernährung, genau so, wie die Hypokapnie auf ein Versagen gegen eine säurereiche Ernährung zu beziehen wäre. Dieselbe Niere versagt im Falle 22 zuerst gegen die Nahrung mit Säureüberschuß des Jahres 1917, im Blute findet sich Hypokapnie. Mit Zunahme des Basenüberschusses schlägt dann der Zustand im Jahre 1918 in das Gegenteil um, die Dyspnöe verschwindet, das Blut ist hyperkapnisch geworden.

Diese Anschauung wird den beobachteten Tatsachen sehr gut gerecht. Es ist also nicht notwendig, zur Erklärung der Hypokapnie der Nierenkranken anzunehmen, es müsse eine ähnliche Störung vorliegen wie beim

Diabetes mellitus. Nichts zwingt uns, anzunehmen, daß infolge der Nierenerkrankung eine pathologische Säure auftrete, die zu Hypokapnie führe. Die Möglichkeit, daß trotzdem irgendwelche normalerweise nicht vorkommende Säuren bei Nierenkranken eine Rolle spielen, wird aber durch die bisher vorliegenden Beobachtungen auch keineswegs widerlegt.

Daß die Zusammensetzung des Blutes bei Nierenkranken keine durchaus gleichartige ist, sondern daß bei manchen Fällen eine Substanz vorhanden ist, die in anderen Fällen fehlt, zeigt das Auftreten einer Unstetigkeit der Bindungskurve in einer Reihe von Fällen. Die Lage dieser Unstetigkeit bei einer bestimmten Wasserstoffzahl ist bis zu einem gewissen Grade kennzeichnend für die Anwesenheit bestimmter Serumbestandteile. Bei Gegenwart von Chlorionen im Serum liegt diese Unstetigkeit ungefähr bei Wasserstoffzahl 6,52[1]). Diese Unstetigkeit haben wir auf die Entladung der Plasmahautkolloide der roten Blutkörperchen bezogen. Tritt die Unstetigkeit der Bindungskurve schon bei basischerer Reaktion auf als bei $p_H = 6{,}52$, so muß eine Substanz im Serum vorhanden sein, die die Entladung der Blutkörperchen begünstigt. Die Phosphorsäure hat diese Eigenschaft nicht[1]), wohl aber eine Reihe von anderen Säuren. Die Unstetigkeit bei der Wasserstoffzahl 6,78, die bei einer Reihe unserer Bindungskurven auftritt, weist auf das Vorhandensein einer solchen Substanz bei unseren Fällen hin. Im ganzen wurde diese Unstetigkeit bei $p_H = 6{,}78$ bei 8 Fällen beobachtet, nämlich bei Fall 1, 4, 9, 22, 27, 37, 38 und 42, also bei einer Nephrose, einer Quecksilberniere, einer akuten, 2 chronischen Glomerulonephritiden und 3 Sklerosen. Bei Fall 5 scheint eine Unstetigkeit bei einer anderen Wasserstoffzahl vorzukommen. Nicht alle Bindungskurven wurden bis über die Wasserstoffzahl 6,78 hinaus verfolgt. Sicher ist aber, daß bei 19 Fällen eine Unstetigkeit nicht auftrat bis zu Wasserstoffzahlen, die saurer sind als 6,78, nämlich bei Fall 11, 13, 14, 18, 20, 21, 26, 30, 31, 32, 36, 38, 41, 43, 45, 46, 48, 49, 50. Darunter ist der Fall 38, bei dem eine spätere Beobachtung die Unstetigkeit bei $p_H = 6{,}78$ ergeben hatte. Die Substanz, die diesen Knick hervorruft, ist also nicht bei allen Nierenkranken vorhanden und kann im Verlaufe der Erkrankung bei einem Falle nachweisbar werden, bei dem sie vorher fehlte. Sicher handelt es sich bei ihr nicht um die Säure, die die Hypokapnie der Nierenkranken in allen Fällen hervorruft. Denn unter den Fällen, bei denen die Unstetigkeit der Bindungskurve bei $p_H = 6{,}78$ fehlt, finden sich 10 Fälle mit Hypokapnie (Fall 11, 13, 26, 32, 43, 45, 46, 48, 49, 50).

Für die Störung der Eukapnie des Blutes ist es ziemlich belanglos, welche klinische Form von Nierenerkrankung vorliegt. Vielmehr kommt es vorwiegend auf den Grad der Niereninsuffizienz an, genau so wie eine andere lebenswichtige Funktion der Niere, die Ausscheidung

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. **89**, 156. 1918.

der Stickstoffschlacken, bei den verschiedensten Formen von Nierenkrankheit gestört sein kann. Hypokapnie des Blutes fand sich unter den untersuchten 50 Fällen 23 mal, und zwar unter 2 vorwiegend tubulären Nierenerkrankungen einmal, bei sämtlichen 3 Quecksilbernieren, bei 3 von 8 akuten und subakuten Glomerulonephritiden, bei 7 von 15 chronischen Glomerulonephritiden und bei 9 von 22 arteriolosklerotischen Nierenstörungen. Unter den Fällen mit Eukapnie waren natürlich alle die Fälle, bei denen überhaupt nur eine geringe Nierenstörung vorlag, nämlich 3 leichte akute Glomerulonephritiden, 3 milde chronische Glomerulonephritiden und 3 arteriolosklerotische Nierenerkrankungen ohne Insuffizienz. Zieht man diese 9 Fälle von der Gesamtzahl der Beobachtungen ab, so ergibt sich, daß Hypokapnie bei 23 von 41 Fällen mit ernsterer Nierenschädigung auftrat, d. h. in 56% der Fälle. Berücksichtigt man außerdem, daß sich die betrachtete Störung der Nierenfunktion in 4 weiteren Fällen (Nr. 35, 36, 37 und 38) in Hyperkapnie des Blutes äußerte, so ergibt sich, daß in rund $^2/_3$ aller Fälle von ausgesprochener Nierenstörung (genau in 65,8%) eine Störung des Säurebasengleichgewichtes im Blute nachweisbar war.

Diese Störung der Eukapnie des Blutes geht mit der Erhöhung des Reststickstoffes nicht parallel. Zweifellos findet sich häufig Eukapnie bei normalem Reststickstoff und schwere Hypokapnie bei hohem Reststickstoff. Aber auch das Gegenteil kommt in einer Reihe von Fällen vor. Eukapnie des Blutes bei Reststickstoffwerten unter 50 mg-% wurde bei 13 Fällen beobachtet (Nr. 1, 6, 7, 8, 11, 14, 15, 19, 29, 30, 31, 39, 42). Unter diesen Fällen befinden sich die 9 mit wenig geschädigter Niere. Aber Eukapnie findet sich auch bei 6 Fällen mit Reststickstoffwerten von 50—100 mg-% (Nr. 9, 10, 18, 20, 40, 41) und bei 2 Fällen mit Reststickstoffwerten über 100, nämlich bei Fall 17 mit Rest-N 101,5 und bei Fall 21 mit Rest-N 214 mg-%. Hypokapnie findet sich vorwiegend bei Fällen mit erhöhtem Reststickstoff. In 4 Fällen mit Hypokapnie betrug der Reststickstoff 50—100 mg-% (Nr. 2, 32, 47, 48) und in 12 Fällen über 100 mg-% (Nr. 3, 4, 5, 13, 25, 27, 28, 33, 34, 46, 49 und 50). Die schwersten Fälle sind Nr. 5 mit reduzierter Wasserstoffzahl 7,20 und Rest-N 327, Nr. 27 mit 7,20 und 282,5 mg-% und Nr. 49 mit 7,09 und 268,4 mg-% Rest-N, also je eine Quecksilberniere, eine chronische Glomerulonephritis und eine arteriolosklerotische Nierenerkrankung. Aber andererseits finden sich auch 4 Fälle mit Hypokapnie und Rest-N unter 50 mg-% (Nr. 12, 22, 26, 43), also 1 akute, 2 chronische Glomerulonephritiden und eine Sklerose. Darunter sind sehr schwere Hypokapnien mit reduzierter Wasserstoffzahl 7,07 (Fall 12), 7,05 (Fall 22), 7,21 (Fall 26) und 7,29 (Fall 43). Unter den 5 Fällen mit Hyperkapnie sind 3 mit Reststickstoffwerten über 100 mg-% (Fall 22, 35, 37), von denen aber nur Fall 37 den hohen Wert von 236,6 mg-% Rest-N erreicht,

noch dazu zu einer Zeit, wo er eukapnisch geworden war. Zur Zeit der Hyperkapnie hatte dieser Fall nur 87,5 mg-%, die beiden anderen 108,5 (22) und 100,8 mg-% Rest-N, also mäßige Erhöhungen. 2 andere Fälle von Hyperkapnie (Nr. 36, 38) hatten dagegen normalen Reststickstoff, je 32,2 mg-%.

Die Störung der Eukapnie der Nierenkranken fassen wir als den Ausdruck einer Niereninsuffizienz auf, als den Beweis für das Versagen einer wichtigen Teilfunktion der Niere. Daß diese Störung mit den Veränderungen des Reststickstoffs nicht parallel geht, ist nach dem Gesagten wohl verständlich. Denn ihr Auftreten hängt nicht nur von dem Grade der Funktionsstörung, sondern auch von dem Grade der Belastung dieser Funktion ab. Beim Diabetes mellitus versagt diese Funktion der normalen Niere, weil sie durch große Mengen dazukommender pathologischer Säuren über ihre Leistungsfähigkeit hinaus belastet wird. Die Funktion der kranken Niere wird um so eher versagen, je mehr die Nahrung einen Überschuß saurer oder basischer Valenzen enthält. Auch bei hochgradiger Funktionsschwäche braucht die Blutzusammensetzung nicht gestört zu sein, wenn nur die Nahrung annähernd gleichviele saure und basische Valenzen enthält. War die Nahrung zufällig in dieser Weise zusammengesetzt, so wird man Eukapnie trotz schwerer Störung, also auch bei hohem Reststickstoff erwarten müssen. Daß andererseits vielfach Hypokapnie mit erhöhtem Rest-N annähernd parallel geht, ist aus den mitgeteilten Zahlen ersichtlich. Daraus aber den Schluß zu ziehen, daß die Beeinträchtigung der Stickstoffausscheidung mit der der Ausscheidung von Säuren und Basen parallel gehe und womöglich an dieselben Elemente gebunden sei, geht doch nicht an. Dem widersprechen die Fälle mit Hypokapnie und normalem Rest-N, die keineswegs seit längerer Zeit so stickstoffarm ernährt waren, daß der niedrige Rest-N nur durch Schonungsdiät erklärbar wäre. Trotz starker Störung des Säure-Basengleichgewichtes muß in diesen Fällen viel mehr eine befriedigende Stickstoffausscheidungsmöglichkeit angenommen werden.

Die Behandlung der Nierenkranken läuft im ganzen auf Schonung der gestörten Funktion hinaus. Bei Stickstoffretention beschränkt man dessen Zufuhr in der Nahrung, bei Chlorretention durch die Nieren wird kochsalzarm ernährt. Will man die Störung des Säure-Basengleichgewichtes schonen, so wird man eine Kost geben müssen, die möglichst gleichviele saure wie basische Valenzen enthält. Da die natürliche Kost meist einen leichten Säureüberschuß hat, ist in der Mehrzahl der Fälle, jedenfalls zur Einleitung der Behandlung, eine etwas basenreichere Ernährung vorteilhaft. Die bei vielen Nierenkranken bewährte lacto-vegetabilische Diät hat diese Eigenschaft. Es ist wohl denkbar, daß ein nicht unerheblicher Teil ihres Nutzens auf dieser Eigenschaft beruht. Von Huchard wird besonders betont, daß man durch diese Kost die Dyspnöe der Nierenkranken, die er als toxi-alimentäre bezeichnet,

oft auf Jahre hinaus unterdrücken kann[1]). Will man sich aber bei der Behandlung nicht auf unbestimmte Eindrücke verlassen, so ist es unerläßlich, die Kohlensäurebindungskurve zu ermitteln. Sie allein gestattet eine Störung der Eukapnie zuverlässig zu erkennen zu einer Zeit, wo die klinischen Zeichen noch nicht eindeutig hervortreten. Da wir wissen, daß jede Störung der Gewebsreaktion die schwersten Funktionsstörungen mit sich bringt, bedarf eine beginnende Änderung des Säure-Basengleichgewichtes im Blute unmittelbarer Korrektur. Diese kann nur auf Grund der Bindungskurven vorgenommen werden. Auf theoretischer und empirischer Grundlage ist vielfach, besonders nachdrücklich von M. H. Fischer[2]) empfohlen worden, Nierenkranken Alkali zu verabreichen, bis der Urin alkalisch wird. Der vielfach entstehenden Hypokapnie scheint diese Therapie gut angepaßt zu sein. Aber gerade die hier mitgeteilten Beobachtungen mahnen dringend zu Vorsicht. Gibt man ohne vorhergehende Blutuntersuchung jedem Nierenkranken Alkali, so wird sich unter den so behandelten Fällen sicher mancher befinden, der von vornherein schon an Hyperkapnie litt und durch die Behandlung deshalb auf das schwerste geschädigt wird. Auch die Dosierung der Alkalitherapie ist nur auf Grund der Kohlensäurebindungskurve möglich. Da den Nierenkranken die Regulationsmöglichkeit fehlt, ist die Gefahr groß, über das Ziel hinauszuschießen und eine krankhafte Hypokapnie in eine ebenso krankhafte Hyperkapnie zu verwandeln. Ein typisches Beispiel dafür ist der einzige Fall von Nierenkrankheit, über den Means, Bock und Woodwell[3]) berichten. Er kam mit ausgesprochener Hypokapnie und Dyspnöe in Behandlung und erhielt in 24 Stunden etwa 175 g Natriumbicarbonat, teils intravenös, teils per klysma. Die Dyspnöe und die Trübung des Sensoriums waren verschwunden, aber die Kohlensäurebindungskurve zeigte jetzt Hyperkapnie. Daß in drohenden Fällen rasche Alkalizufuhr nützlich sein kann, zeigt dieser wie viele andere Fälle. Ob es aber im Prinzip richtig ist, bei Hypokapnie Alkali, bei Hyperkapnie Säure zuzuführen, kann bestritten werden. Meist besteht die vorliegende Störung ja in einer Retention saurer bzw. basischer Valenzen. Neutralisiert man durch Alkali- oder Säurezufuhr, so muß die Niere das gebildete Neutralsalz ausscheiden, ihre Funktion der Salzausscheidung wird also belastet. Aus diesem Grunde ist es, wenn genügend Zeit für die Behandlung verfügbar ist, richtiger, den Fehler durch geeignete Kostzusammensetzung zu korrigieren. Die gebräuchliche, rein empirische Behandlung der Nierenkranken trägt

---

[1]) H. Huchard, Die Krankheiten des Herzens und ihre Behandlung. Deutsch von F. Rosenfeld. 1919, II. Aufl., S. 122.

[2]) M. H. Fischer, Kolloidchem. Beih. **4**, 343. 1913.

[3]) J. H. Means, A. V. Bock und M. N. Woodwell, Journ. of exp. med. **33**, 201. 1921.

dem meist Rechnung. Aber nur durch die Untersuchung der Kohlensäurebindung kann diese Therapie auf rationellen Boden gestellt werden.

Der hier vertretenen Auffassung, daß die Störung der Eukapnie Nierenkranker ganz unabhängig von den sonstigen Nierenfunktionsstörungen als Symptom für sich behandlungsbedürftig ist, liegt die Überzeugung zugrunde, daß sie ganz allein zu einer schweren Schädigung der wichtigsten Körperfunktionen führen kann, so schwer, daß sie mit dem Leben unvereinbar sind. Für die Funktion des Körpers ist es offenbar gleichgültig, ob die Hypokapnie durch ungenügende Ausscheidung der im Körper gebildeten und ihm mit der Nahrung zugeführten sauren Valenzen entsteht, oder ob sie durch übermäßige Ausscheidung basischer Valenzen hervorgerufen wird. Im Prinzip handelt es sich um dieselbe Hypokapnie, die Walter durch stomachale Zufuhr von Salzsäure bei Kaninchen erzeugte. Denn die Chlorionen wurden ja in diesen Versuchen sofort durch Natriumionen neutralisiert und die Krankheitserscheinungen waren nicht die Folge des so entstehenden Kochsalzes, sondern der Basenverarmung. Falls also die Hypokapnie der Nierenkranken so hochgradig ist wie die der Kaninchen von Walter, so müssen auch dieselben Folgen eintreten. Bei den Fällen Nr. 3, 4, 12, 13, 22, 25, 48, 49, 50 ist dieser Grad der Hypokapnie erreicht. Bei Fall 12 und 22 war die Hypokapnie vorübergehend und besserungsfähig, die anderen Fälle endigten tödlich. Auf Grund der Versuche Walters muß angenommen werden, daß ein längeres Bestehen dieses hohen Grades von Hypokapnie an sich schon tödlich enden muß, und im Falle 50 scheint es uns direkt wahrscheinlich, daß die Hypokapnie als solche die Todesursache gewesen ist.

Die unmittelbare Folge der geänderten Kohlensäurebindungskurve ist zweifellos eine schwere Störung der inneren Atmung. Je flacher die Kohlensäurebindungskurve in dem im Körper vorkommenden Spannungsbereich verläuft, desto weniger Kohlensäure kann von derselben Blutmenge befördert werden, solange das Spannungsgefälle vom Gewebe zum Blut und vom Blut zur Alveolarluft ungeändert bleibt. Kann der Blutstrom nicht erhöht werden, so kann also bei so geänderter Bindungskurve die im Gewebe gebildete Kohlensäure nur durch Vergrößerung des Spannungsgefälles ausgeschieden werden. Besteht also keine andere Kompensationsmöglichkeit, so muß die Kohlensäurespannung im Gewebe wachsen. Die absolute Menge der im Gewebe als Bicarbonat gebundenen Kohlensäure wird trotzdem herabgesetzt sein, denn der zur Bindung von Kohlensäure verfügbare Alkalivorrat ist natürlich im Gewebe aus denselben Gründen herabgesetzt wie im strömenden Blute. Sonst müßten die im Blute in abnorm reichlicher Menge enthaltenen Anionen nichtflüchtiger Säuren in das Gewebe abströmen, bis ein Gleichgewicht erreicht ist. Durch die Anhäufung nichtflüchtiger Säureanionen und durch Erhöhung der Kohlensäurespannung im Gewebe muß

dessen Wasserstoffzahl in der sauren Richtung verschoben werden. Diese Änderung der Gewebsreaktion bedeutet eine schwere Funktionsstörung.

Aber diese Änderung der Gewebsreaktion, diese Erhöhung der Kohlensäurespannung im Gewebe kann vermieden werden, wenn das Potential der Kohlensäurespannung am anderen Ende des Weges herabgesetzt wird, d. h. wenn die Kohlensäurespannung der Alveolarluft sinkt. Diese zweite Kompensationsmöglichkeit geht auf dem Umweg über das Atemzentrum. Nach der Reaktionstheorie von Winterstein wird das Atemzentrum durch die Reaktion des Blutes in der Weise zur Tätigkeit angeregt, daß die Wasserstoffzahl des Blutes konstant erhalten wird. Bei Hypokapnie des Blutes kann die Wasserstoffzahl nur dann konstant bleiben, wenn seine Kohlensäurespannung sinkt. Diese Regulationsvorrichtung tritt also nur in Wirksamkeit unter Störung der äußeren Atmung. Sie führt zu dem klinischen Symptom der Dyspnöe. Kompensation der Hypokapnie ist nur möglich durch Überventilation, die sich klinisch als Dyspnöe äußern muß. Die bei Nierenkranken häufig beobachtete Dyspnöe kann also als notwendige Folge der Hypokapnie erklärt werden. Unter den beobachteten 50 Fällen finden sich 23, nämlich eine Nephrose, 3 Quecksilbernieren, 3 akute und 8 chronische Glomerulonephritiden und 8 Sklerosen, bei denen die beobachtete Dyspnöe durch die nachgewiesene Hypokapnie erklärt wird. Die Dyspnöe muß in diesen Fällen als die notwendige Folge der verminderten Alkalireserve aufgefaßt werden. Wie weit die dadurch herbeigeführte Überventilation ausreicht, um eine volle Kompensation zu erreichen, d. h. um die Wasserstoffzahl des Blutes auf dem wahren Werte zu halten, kann aus den Ergebnissen der hier mitgeteilten Untersuchungen nicht geschlossen werden. Dazu sind noch weitere Untersuchungen erforderlich, über die in einer folgenden Mitteilung berichtet werden soll.

Aber nicht bei allen Nierenkranken, die klinisch an Dyspnöe litten, ist eine Hypokapnie des Blutes gefunden worden. Bei 2 akuten, 5 chronischen Glomerulonephritiden und 8 Sklerosen bestand Dyspnöe mit Eukapnie oder Hyperkapnie. Die Dyspnöe namentlich der hierher gehörigen Sklerosen gehörte bei mehreren Fällen zu den schwersten überhaupt beobachteten Graden. Periodisches Atmen wurde überhaupt nur bei Fällen mit Eukapnie oder Hyperkapnie des Blutes beobachtet. Aus den mitgeteilten Befunden geht hervor, daß nur bei ganz wenigen dieser Fälle Veränderungen der Atmungsorgane oder Kreislaufstörungen so hohen Grades bestanden, daß die Dyspnöe dadurch erklärt werden könnte. Bei der Mehrzahl aller Fälle ist die Dyspnöe weder durch solche Komplikationen noch durch eine Veränderung der Blutbeschaffenheit erklärbar. Die Bestimmung der Bindungskurve gestattet es, unter den Fällen von Dyspnöe der Nierenkranken 2 Formen abzugrenzen, von denen die eine durch Hypokapnie hervorgerufen wird, während die

andere auf eine Änderung der Tätigkeit des Atemzentrums hinweist. Über diese kann erst etwas ausgesagt werden, wenn festgestellt ist, welche Reize auf das Atemzentrum wirken. Dazu muß die Wasserstoffzahl des Arterienblutes bekannt sein. Auch darauf werden wir also erst auf Grund weiterer Untersuchungen zurückkommen können.

Zusammenfassung.

Die Kohlensäurebindungskurve des Gesamtblutes wurde als Maßstab der zur Kohlensäurebeförderung verfügbaren basischen Valenzen, der Alkalireserve des Gesamtblutes verwendet.

Bei 50 Nierenkranken wurden im ganzen 75 Kohlensäurebindungskurven an verschiedenen Tagen ermittelt. Dabei fand sich bei 23 Fällen eine herabgesetzte Kohlensäurebindungsfähigkeit des Blutes, eine Hypokapnie oder Acidose im Sinne Naunyns, und zwar unter 2 vorwiegend tubulären Nierenerkrankungen (Nephrosen) 1 mal, bei sämtlichen 3 untersuchten Quecksilbernieren, unter 8 akuten und subakuten Glomerulonephritiden 3 mal, unter 15 chronischen Glomerulonephritiden 7 mal, unter 22 arteriolosklerotischen Nierenerkrankungen 9 mal. Bei weiteren 5 Nierenkranken fand sich aber im Gegensatz hierzu eine über die Norm erhöhte Kohlensäurebindungsfähigkeit, eine Hyperkapnie des Blutes.

Da sich unter den untersuchten 50 Fällen 9 befanden, bei denen die Nierenschädigung auch nach dem übrigen klinischen Krankheitsbilde als geringfügig bezeichnet werden muß, zeigten von den 41 Fällen mit erheblichen Nierenstörungen 27, d. h. etwa $^2/_3$ aller Fälle ausgesprochene Störung des Gleichgewichtes zwischen Säuren und Basen im Organismus.

Der Grad der Störung der Eukapnie des Blutes geht mit der Erhöhung des Reststickstoffes im Blute nicht parallel.

Die Störung der Eukapnie des Blutes ist auf die Beeinträchtigung einer lebenswichtigen Nierenfunktion zurückzuführen. Die Niere ist nicht mehr imstande, Vermehrung der sauren oder basischen Valenzen des Blutes ausreichend rasch durch Ausscheidung der überschüssigen Valenzen im Urin auszugleichen.

Die Hypokapnie der Nierenkranken muß zu schweren Störungen der inneren und äußeren Atmung Veranlassung geben und kann so hochgradig werden, daß sie allein mit dem Leben unverträglich wird. Die Hypokapnie bedarf deshalb der Behandlung, die nur bei Kontrolle der Kohlensäurebindungskurve rationell gestaltet werden kann.

Von der durch Hypokapnie des Blutes hervorgerufenen Dyspnöe der Nierenkranken muß und kann durch die Blutuntersuchung eine andere Form von Dyspnöe unterschieden werden, die auch nicht als pulmonale oder kardiale Dyspnöe aufgefaßt werden kann. Ihre Symptome weisen auf eine Störung der Tätigkeit des Atemzentrums hin.

Bemerkungen zu den Abhandlungen von Heinrich Herbst über Adsorptionskohle.

Von

H. Freundlich.

(Eingegangen am 9. September 1921.)

Die letzthin in dieser Zeitschrift — diese Zeitschr. **115**, 204. 1921: Über die Adsorption durch Kohlenstoff und ebendort **118**, 103. 1921: Über den Einfluß des Wassergehalts auf die Adsorptionsleistung einer aktiven Kohle — erschienenen Abhandlungen von Heinrich Herbst nötigen mich zu folgenden Bemerkungen:

Es könnte durch sie der Eindruck erweckt werden, als ob Herr Herbst allein oder in allererster Reihe während des Krieges die Adsorptionsleistung aktiver Kohle und deren Herstellung untersucht hat. Dies ist nicht der Fall. Derartige Untersuchungen wurden zu jener Zeit planmäßig in der von mir geleiteten Abteilung des Haber unterstehenden Kgl. Preuß. Kaiser Wilhelm-Instituts für physikalische Chemie und Elektrochemie angestellt, nachdem sie schon vorher in der von H. Pick geleiteten Abteilung desselben Institutes angefangen worden waren. Außer Herrn Herbst befaßten sich, z. T. mindestens in gleichem Maße und mit mindestens dem gleichen Erfolg die Herren F. Eberle, H. Fischer, E. Felheim, W. Friedmann, A. Fürth, R. Gruhl, A. Huettlinger, W. Husse, J. Jaenicke, H. Kautsky, E. Oettinger, A. Pfannenstiel, W. Sander, A. Simon, A. Stirm und F. J. Weil mit diesen Versuchen. Die zweite der erwähnten Abhandlungen zumal ist nur die großenteils in Gemeinschaft mit Herrn Hans Fischer durchgeführte Wiederholung von Messungen, die schon früher nach einer etwas anderen Anordnung von den Herren Jaenicke, Kautsky und Oettinger ausgeführt worden waren. Die Versuche der ersten Abhandlung wurden gleichfalls im Rahmen dieser Arbeiten begonnen, dann von Herrn Herbst nach dem Kriege unter meiner Leitung im Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie abgeschlossen. Sie gingen aber weitgehend von seinen eigenen Plänen aus. Ihre eigenmächtige Veröffentlichung ist deshalb kaum minder unberechtigt, aber eher entschuldbar.

Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VI.

Von

E. Freudenberg und **P. György.**

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

(Eingegangen am 9. September 1921.)

Unsere früheren Untersuchungen hatten uns zu der Auffassung geführt, daß der im Organismus gegebene Komplex von Bedingungen zur Verkalkung der Gewebe führen müßte, wenn nicht Hemmungswirkungen sich geltend machten. Wir hatten bereits mitgeteilt, daß solche Hemmungen des physikalisch-chemisch gebotenen Ablaufs ausgehen von Stoffen, die beim tryptischen und autolytischen Eiweißabbau auftreten. Ferner hatten wir den Harnstoff und die Ammoniaksalze als solche Stoffe namhaft gemacht.

Wir haben uns nun einerseits bemüht, weitere in diesem Sinne wirkende Substanzen aufzufinden; andererseits hielten wir es für notwendig, bei der Untersuchung jener Hemmungsvorgänge nochmals die Rolle der Anionen zu prüfen, zumal unsere früheren Arbeiten hierbei schon bestimmte Hinweise ergeben hatten.

I. Die Wirkung von Eiweißderivaten auf die Kalkbindung an Knorpel.

Bei diesen Untersuchungen haben wir genau die Methodik eingehalten, die wir in unserer 5. Mitteilung beschrieben haben, wir haben uns also einer Art von Kompensationsdialyse bedient, über deren Einzelheiten wir auf das damals Gesagte verweisen. Wir prüften zunächst die Wirkung von Aminosäuren und Peptiden[1]) auf die Kalkbindung in der Weise, daß dieselben der Lösung im Inneren der Dialysatorhülse und der Außenflüssigkeit zugesetzt wurden. Gemäß unserer früheren Mitteilung findet bei der gewählten Versuchsanordnung auch in Normalversuchen erst oberhalb 0,01-Normalität deutliche Ca-Bindung statt

[1]) In den Versuchen 2—4 wurden Mercksche Präparate angewendet. Die folgenden Versuche (5—9) sind mit Präparaten ausgeführt, die uns Herr Dozent Edlbacher (Physiol. Institut) freundlichst zur Verfügung gestellt hat. Lösungen, welche nach Zusatz der Substanzen nicht neutral reagierten, werden vorsichtig gegen Lackmus neutralisiert. Wir haben auch am Versuchsende die Acidität kontrolliert.

(> 10%). Diese Bindung ließ sich konstant nachweisen, wenn Fäulnis vermieden wurde.

Versuch 1: Ringerlösungen ohne Zusätze.			
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0077	0,0136	0,0161
„ nach „ „ . .	0,0080	0,0121	0,0129
Ca-Bindung in Prozenten	0	11	19,9
Versuch 2: Ringerlösungen mit Glykokoll (0,1 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0077	0,0136	0,0161
„ nach „ „ . .	0,0085	0,0125	0,0160
Ca-Bindung in Prozenten	0	8,1	0
Versuch 3: Ringerlösungen mit Alanin (0,1 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0090	0,0115	0,0170
„ nach „ „ . .	0,0100	0,0137	0,0156
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	8
Versuch 4: Ringerlösungen mit Leucin (0,1 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0090	0,0115	0,0170
„ nach „ „ . .	0,0097	0,0111	0,0160
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	5,9
Versuch 4: Ringerlösungen mit Asparagin (0,1 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0090	0,0115	0,0170
„ nach „ „ . .	0,0102	0,0110	0,0168
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	0
Versuch 5: Ringerlösungen mit Histidin (0,05 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0124	0,0154	
„ nach „ „	0,0120	0,0158	
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	
Versuch 6: Ringerlösungen mit Arginin (0,05 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0124	0,0154	
„ nach „ „	0,0137	0,0155	
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	
Versuch 7: Ringerlösungen mit Glycyl-Glycin (0,05 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0124	0,0154	
„ nach „ „	0,0125	0,0160	
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	
Versuch 8: Ringerlösungen mit Glycin-Anhydrit (0,05 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0126	0,0158	
„ nach „ „	0,0131	0,0140	
Ca-Bindung in Prozenten	0	11	
Versuch 9: Ringerlösungen mit Imidazol (0,05 n).			
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0124	0,0154	
„ nach „ „	0,0120	0,0169	
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	

Wie ersichtlich verhindern alle hier geprüften Substanzen mit Ausnahme von Glycin-Anhydrit die Kalkbindung an Knorpelgewebe. Wir gehen nun dazu über, die Wirkung von Aminen[1]) auf diesen Vorgang zu betrachten.

[1]) Die verwendeten Präparate stammten von E. Merck.

Versuch 10: Ringerlösungen ohne Zusätze.

Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0088	0,0104	0,0157
„ nach „ „ . .	0,0095	0,0105	0,0125
Ca-Bindung in Prozenten	0	0	20

Versuch 11: Ringerlösungen mit Cholin (0,1 n) mit HCl gegen Neutralrot neutralisiert.

Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0087	0,0105	0,0144
„ nach „ „ . .	0,0080	0,0090	0,0128
Ca-Bindung in Prozenten	8	14	11
p_H gemessen.	7,92	8,02	7,75

Versuch 12: Ringerlösungen mit Cholin (0,1 n) wie oben neutralisiert.

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0162	0,0162
„ nach „ „	0,0144	0,0140
Ca-Bindung in Prozenten	11	13,6

Versuch 13: Ringerlösungen ohne Zusätze.

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0170	0,0170
„ nach „ „	0,0141	0,0146
Ca-Bindung in Prozenten	17	14

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Cholin die Kalkbindung nicht hemmt. Wir fügen bei dieser Gelegenheit hinzu, daß wir auch von Adrenalin in 0,1 promill. Konzentration keine Hemmungswirkung feststellten. Dagegen war die Hemmung bei einer Reihe anderer Stoffe sehr stark.

Versuch 14: Ringerlösungen mit Methylamin (0,05 n) mittels HCl neutralisiert.

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0113	0,0180
„ nach „ „	0,0107	0,0168
Ca-Bindung in Prozenten	5,3	6,7

Versuch 15: Ringerlösungen mit Trimethylamin (0,05 n) wie oben neutralisiert.

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0117	0,0170
„ nach „ „	0,0116	0,0182
Ca-Bindung in Prozenten	0	0

Versuch 16: Ringerlösungen mit Betain (0,1 n).

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0122	0,0170
„ nach „ „	0,0131	0,0180
Ca-Bindung in Prozenten	0	0

Versuch 18: Ringerlösungen mit Kreatin (0,1 n).

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0115	0,0170
„ nach „ „	0,0115	0,0173
Ca-Bindung in Prozenten	0	0

Versuch 19: Ringerlösungen mit Kreatinin (0,1 n).

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0115	0,0170
„ nach „ „	0,0118	0,0140
Ca-Bindung in Prozenten	0	17,6

Versuch 20: Ringerlösungen mit Guanidinchlorid (0,1 n).

Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0114	0,0168
„ nach „ „	0,0130	0,0170
Ca Bindung in Prozenten	0	0

Versuch 21: Ringerlösungen mit Guanidinrhodanid (0,1 n).		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0112	0,0190
„ nach „ „	0,0136	0,0180
Ca-Bindung in Prozenten	0	5,3
Versuch 22: Ringerlösungen mit Methylguanidinnitrat (0,1 n).		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0112	0,0190
„ nach „ „	0,0152	0,0180
Ca-Bindung in Prozenten	0	5,3

Wenn wir auf Grund unserer früheren Untersuchungen, der hier ohne Zusätze beobachteten Kontrollproben und der negativen Versuche eine Ca-Bindung erst von 10% oder mehr mit wirkungslosen Substanzen als positive Bindung bewerten, so ergibt sich, daß folgende Substanzen die Ca-Bindung an Knorpelgewebe hemmen: die Aminosäuren Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparagin, Histidin, Arginin, ferner das Dipeptid Glycyl-Glycin, sowie Imidazol. Ohne Wirkung im Sinne einer Hemmung der Ca-Bindung scheint das Anhydrit des Glycins zu sein. Während dieser Befund dafür spricht, daß entscheidend für das Vermögen der Hemmung der Ca-Bindung bei solchen Stoffen die Anwesenheit einer oder mehrerer freier Aminogruppen ist, worauf auch der Unterschied bei Kreatin und Kreatinin hinweist, bereitet das Verhalten des Imidazols dieser Auffassung Schwierigkeiten. Der Imidazolring enthält nach der angenommenen Strukturformel keine freie Aminogruppe, und trotzdem sehen wir die Hemmung der Ca-Bindung bei dieser Substanz.[1])

Die Wirksamkeit der Aminbasen ist gemäß ihrem allgemein-chemischen Verhalten und entsprechend dem gleichsinnigen Einfluß der Ammoniaksalze auf die Ca-Bindung zu erwarten. Auffällig ist der Unterschied zwischen Cholin und Betain, von denen jenes unwirksam, dieses wirksam ist. Betain besitzt bekanntlich eine Acetylgruppe, wo Cholin eine Äthoxylgruppe enthält.

Die Wirkung des Guanidins, Methylguanidins und des Kreatins dürfte nach dem oben Gesagten auf der Anwesenheit freier Aminogruppen beruhen.

II. Der Einfluß der Anionen auf die Kalkbindung an Gehirn und im Serum.

Die Untersuchung des Einflusses der Anionen, mit welchen Ca auftritt, hatte früher ergeben, daß sich bei jugendlichem Knorpel eine Herabsetzung oder Aufhebung der Ca-Bindung durch Nitrat- und Acetation nachweisen läßt. Beim Knorpel des Erwachsenen war kein solcher Befund zu erheben. Es fragte sich nun, ob dieser Beobachtung allgemeinere Bedeutung zukommt. Wir haben daher den Einfluß der Anionen an folgenden Systemen geprüft:

[1]) Vgl. A. Kossel und S. Edlbacher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **93**, 1915, welche darauf hinweisen, daß Imidazol wie eine Substanz mit freier Aminogruppe mit Formaldehyd reagiert.

1. Ca-Bindung durch Gehirnbrei aus Serum mit künstlich erhöhtem Ca-Gehalt.

2. Ca-Bindung durch die Serumkolloide.

ad 1. Methodik: 5 g menschlicher, möglichst fein zerkleinerter und von Häuten befreiter Gehirnmasse in Breiform werden mit 10 ccm Serum gemischt, dem vorher $^1/_{10}$ Volum der unten angeführten Salzlösungen in $^n/_6$-Konzentration beigefügt war. Das Serum ist aus defibriniertem Kalbsblut durch Zentrifugieren gewonnen und erhält von vornherein in den verschiedenen Versuchen verschieden hohe Zusätze von $CaCl_2$. Der Ca-Gehalt des Serums wird vor und nach dem Vermischen mit Gehirnmasse analytisch bestimmt. Serum und Gehirnmasse bleiben 4 Stunden in Kontakt und werden durch Zentrifugieren getrennt. — Der Analysengang im Serum war der von Jansen[1]) für den Blutkalk ausgearbeitete.

Auf Volumbestimmung der Hirnmasse nach Zufügen des Serums wird verzichtet. Die Zahlen geben also nicht die wirkliche Bindung wieder, da sie einer Korrektur entsprechend den Volumdifferenzen bedürfen. Im Verhältnis zu den hierdurch möglichen Unterschieden sind aber die Ausschläge in der Mehrzahl der Versuche so groß, daß die erhaltenen Zahlen als brauchbare Vergleichswerte anzusehen sind. Ca ist in Normalität ausgedrückt.

Versuch 23: Gehirn eines Neugeborenen.

	Kal. bicarbor.	Kal. phosph.	Kal. acet.	Kal. nitric.	Kal. rhod.	Kal. chlor.
Ca vorher	0,3536	0,3536	0,3536	0,3536	0,3536	0,3536
Ca nachher	0,1408	0,2660	0,2636	0,2630	0,1680	0,1880
Bindung in Prozenten	60	25,1	25,2	25,7	52,6	46,8

Versuch 24: Gehirn eines Säuglings von 6 Monaten.

	Kal. bicarbon.	Kal. phosph.	Kal. acet.	Kal. nitric.	Kal. rhod.	Kal. chlor.
Ca vorher	0,1984	0,1984	0,1984	0,1984	0,1984	0,1984
Ca nachher	0,0460	0,2440	0,2512	0,1904	0,1332	0,0856
Bindung in Prozenten	76	0	0	4	46,1	32,6

Versuch 25: Gehirn eines 1jährigen Kindes.

	Kal. bicarbon.	Kal. phosph.	Kal. acet.	Kal. nitric.	Kal. rhod.	Kal. chlor.
Ca vorher	0,0900	0,0900	0,0900	0,0900	0,0900	0,0900
Ca nachher	0,0836	0,0784	0,0860	0,0962	0,0734	0,0552
Bindung in Prozenten	7,1	12,9	0	0	18,4	38,7

Versuch 26: Gehirn eines Erwachsenen.

	Kal. bicarbon.	Kal. phosph.	Kal. acet.	Kal. nitric.	Kal. rhod.	Kal. chlor.
Ca vorher	0,1720	0,1720	0,1720	0,1720	0,1720	0,1720
Ca nachher	0,1640	0,1882	0,1532	0,1112	0,1352	0,1066
Bindung in Prozenten	4.6	0	10,9	34,6	21,4	38

Versuch 27: Kalbsgehirn.

	Kal. bicarbon.	Kal. phosph.	Kal. acet.	Kal. nitric.	Kal. rhod.	Kal. chlor.
Ca vorher	0,1248	0,1248	0,1248	0,1248	0,1248	0,1248
Ca nachher	0,1228	0,0814	0,1186	0,0830	0,0806	0,0640
Bindung in Prozenten	0	34,7	4,9	33,4	35,4	48,7
p_H gemessen	7,31	7,31	7,40	7,35	7,23	7,29

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**. 1918.

Die hier mitgeteilten Versuche zeigen darin Übereinstimmung, daß die Bindung dann, wenn die Konzentration an sekundärem Phosphat, an Acetat und an Nitrat im Serum erhöht wird, überall deutlich, bisweilen sogar bis zur völligen Aufhebung vermindert ist. Zunächst widerspruchsvoll scheinen die Bicarbonatversuche zu sein, indem die Versuche 23 und 24 sehr starke, die übrigen verminderte Ca-Bindung ergeben. Wir werden hierauf noch weiter unten zurückkommen.

Zur Erklärung der Wirkung der Anionen können verschiedene Ursachen herangezogen werden: 1. Einfluß derselben auf die Löslichkeit des im System vorhandenen Kalks; 2. Einfluß auf den Dissoziationszustand der Ca-Verbindungen; 3. spezifische Anionenwirkung (im Sinne der Hofmeisterschen Reihen).

Das letztangeführte Moment, dessen Berechtigung J. Loeb[1]) neuerdings prinzipiell angreift, indem er dartut, daß die Salze der schwachen organischen Säuren (Citrate, Tartrate, Acetate) durch Pufferwirkung die H-Ionenkonzentration saurer Proteinlösungen erniedrigen, möchten wir erst in letzter Linie heranziehen. Ein solcher Gesichtspunkt kann erst diskutiert werden, wenn andere, klarere Erklärungsmöglichkeiten versagen. Es sei hier nur erwähnt, daß der Loebsche Einwand gegen unsere Versuchsanordnung nicht zu erheben ist, da Serum eine starke Pufferung gewährleistet. Die Messung der H-Ionen in Versuch 27 bestätigt dies.

Was nun die Erklärung der Anionenwirkung durch Löslichkeitsveränderung angeht, so muß eine solche — in Analogie zur Wirkung der Acetat- oder Sulfationen — berücksichtigt werden. Hierdurch können Täuschungen bez. einer „spezifischen Anionenwirkung" entstehen. Wir sahen z. B. früher, daß aus einer wirklichen Lösung von $CaSO_4$ ebensogut Ca gebunden wird wie in Gegenwart von Chlorionen. Erhöht man aber die Sulfationen bis zur Überschreitung des Löslichkeitsproduktes, so entstehen bei der Untersuchung der Lösung Täuschungen über die wirkliche Bindung. Der Umstand, daß durch den Phosphatzusatz im Serum eine hauchige Trübung entstand, die in den Versuchen 23, 25 und 27 nach scharfem Zentrifugieren der Serum-Gehirnmischung verschwunden war, legt den Gedanken an veränderte Löslichkeitsverhältnisse nahe. Eine entsprechende Trübung oder gar das Zustandekommen einer Fällung wurde in den Bicarbonatversuchen jedoch niemals beobachtet. Hier muß die zweite der oben angeführten Möglichkeiten, veränderte Dissoziationsverhältnisse, in den Vordergrund gestellt werden. Letzten Endes betrifft dies allerdings auch nur die Löslichkeit. — Wir haben schon in früheren Mitteilungen[2]) auf komplexe Calcium-Phosphat- bzw. Calcium-Bicarbonat-Eiweißverbin-

[1]) J. Loeb, Journ. of gen. physiol. **3**, Nr. 3. 1921.
[2]) Diese Zeitschr. **118** u. **121**. 1921.

dungen hingewiesen. Infolge herabgeminderter Dissoziation von Ca-Ionen führen diese Verbindungen, die im Serum entstehen, zu einer Verschlechterung der Ca-Bindung an die feste Phase. Kommt es zur Entstehung solcher kolloiden Komplexe, so kann weiterhin durch Zentrifugieren wie durch Adsorption beim Vermischen mit dem Organbrei ein Kalkentzug aus dem Serum vorgetäuscht werden (vgl. Versuche 23 u. 24 bez. Bicarbonat). Über die Wirkung von Nitrat und Acetat unterrichten die folgenden Versuche.

ad 2. Methodik: 20 oder 25 ccm Kalbsserum kommen in das Innere von Dialyseschläuchen und werden gegen 20 ccm verdünnter Ringerlösung 2 mal 24 Stunden unter Toluolzusatz dialysiert, nachdem vorher dem Serum abgewogene Mengen der zu vergleichenden Salze beigefügt worden waren. Die Außenflüssigkeiten werden auf Ca analysiert. Ca in Normalität ausgedrückt.

Versuch 28: 25 ccm Serum gegen 20 ccm 3fach verdünnter Ringerlösung 2 Tage dialysiert. Verdünnungsflüssigkeit 0,1 proz. Bicarbonatlösung.

	Normales Serum	1 Stunde CO_2 durchgeleitet	Serum + 0,2% Bicarbonat
vorher außen	0,0316	0,0316	0,0316
nachher außen	0,0466	0,0470	0,0283
nachher innen	0,0520	0,0556 getrübt	0,0696

Versuch 29: Wie 28.

	Normales Serum	1 Stunde CO_2 durchgeleitet	Serum + 0,2% Bicarbonat
vorher außen	0,0390	0,0390	0,0390
nachher außen	0,0530	—	0,0326
nachher innen	0,0640	stark getrübt	0,0821

Versuch 30: 25 ccm Serum gegen 20 ccm halb mit Wasser verdünnter Ringerlösung dialysiert.

	Normales Serum	Serum + 0,2% Kal. bicarb.	Serum + 0,3% Acetat	Serum + 0,3% Nitrat
vorher außen . .	0,0650	0,0650	0,0650	0,0650
nachher außen .	0,0801	0,0718	0,0702	0,0678

Versuch 31: Wie 30.

	Normales Serum	Serum + 0,2% Bicarbonat	Serum + 0,3% Acetat	Serum + 0,3% Nitrat
vorher außen . .	0,0650	0,0650	0,0650	0,0650
nachher außen .	0,0792	0,0658	0,0772	0,0762

Versuch 32: Wie 30.

	Normales Serum	Serum + 0,2% Bicarbonat	Serum + 0,3% Acetat	Serum + 0,3% Nitrat
vorher außen . .	0,0650	0,0650	0,0650	0,0650
nachher außen .	0,0976	0,0826	0,0738	0,0760

Versuch 33: Wie 30.

	Normales Serum	Serum + 0,2% Bicarbonat	Serum + 0,3% Acetat	Serum + 0,3% Nitrat
vorher außen . .	0,0650	0,0650	0,0650	0,0650
nachher außen .	0,0856	0,0716	0,0604	0,0710

Versuch 34: 25 ccm Serum gegen 20 ccm 4fach mit Wasser verdünnter Ringerlösung dialysiert.

	Normales Serum	Normales Serum	Serum + 0,2% Bicarbonat	Serum + 0,2% Bicarbonat
vorher außen . .	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316
nachher außen .	0,0542	0,0560	0,0518	0,0460

Versuch 35: Wie 34.

	Normales Serum	Ser. + 0,4% Bicarbonat	Ser. + 0,6% Nitrat	Ser. + 0,6% Acetat	Ser. + 1,2% Sulfat
vorher außen	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316
nachher außen	0,0506	0,0454	0,0450	0,0502	0,0430

Die Versuche dieser Reihe zeigen, daß am meisten Calcium durch die Hülse diffundiert, wenn diese normales Serum enthält. Einzig die Probe in Versuch 28, in der CO_2 durch das Serum geleitet worden war, läßt wenig mehr Ca durchtreten als Normalserum. Sehr ausgesprochen, am meisten in den Versuchen 28 und 29 ist die Verminderung des diffusiblen Kalks durch Bicarbonatzusatz, ganz entsprechend der Deutung, die wir den Versuchen mit Hirnmasse gegeben hatten.

Es sei bei diesen Ergebnissen daran erinnert, daß Ca in 3 Formen im Serum vorliegt. Als Ca-Ion, als undissoziiertes Ca-Salz und als Ca-Kolloidverbindung. Die Menge der Ca-Ionen, die für den Umfang der Bindung an die Kolloide maßgebend ist, wird gemäß der Formel von P. Rona und Takahashi[1]) bestimmt $\frac{[Ca''][HCO_3']}{[H']} = H$. Hiernach ergibt sich, daß bei zunehmendem Bicarbonatgehalt und konstanter [H'] die Ca-Ionen an Menge abnehmen müssen. Schon daraus ist a priori der Ausfall unserer Bicarbonatversuche so, wie er tatsächlich erfolgte, vorauszusagen.

Auch die Proben mit Acetat und Nitrat zeigen nun aber eine deutliche Verminderung im Betrage des diffusiblen Klakes gegen Normalserum. Die Verminderung kann stärker sein als die durch Bicarbonat bewirkte.

Dieser Befund trägt zur Aufklärung des Verhaltens der Kalkbindung an Gehirnmasse in Gegenwart von Acetat und Nitrat (Versuche 23—27) bei. Da Ca im genannten Falle in indiffusible Form übergeht, so ist anzunehmen, daß jene Anionen im Serum zu einer Verminderung der Ca-Ionen führen, vermutlich durch Komplexbildung mit Eiweißkörpern und Ca. Da aber die Kalkbindung von der Konzentration der Ca-Ionen abhängt, muß sie herabgesetzt gefunden werden.

Nach dieser Vorstellung würde die früher beobachtete geringere Bindung an jugendlichen Knorpel aus Lösungen von Ca-Acetat und -Nitrat gegenüber dem Chlorid auf analogen Vorgängen beruhen. Dort handelt es sich um ein System, in welchem Ca an eine feste Phase

[1]) Rona und Takahashi, diese Zeitschr. **49**. 1913.

aus einer Lösung gebunden werden soll, die ihrerseits gelöste Kolloide durch Auswaschung und Autolyse enthält. Diese Substanzen würden die Rolle der Serumkolloide in den Dialyseversuchen spielen.

III. Wirkung N-haltiger Stoffe auf die Ca-Bindung im Serum.

Wir haben eine Reihe der im ersten Abschnitt dieser Arbeit untersuchten Stoffe auch in Dialyseversuchen mit Serum geprüft, deren Methodik die gleiche war, wie sie oben geschildert wurde.

Versuch 36: 25 ccm Serum gegen 20 ccm 4fach verdünnte Ringerlösung dialysiert. Dauer 48 Stunden.

	Normales Serum	Serum + 0.25% NH_4Cl
vorher	0,0316	0,0316
nachher	0,0544	0,0612

Versuch 37: Wie 36.

	Normal-serum	Normal-serum	Serum mit Ammonchlorid			Serum m. Coffein	
			0,1 mol.	0,05 mol.	0,025 mol.	0,056 mol.	0,028 mol.
vorher Ca	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316	0,0316
nachher Ca	0,0560	0,0570	0,0632	0,0612	0,0570	0,0632	0,0540

Versuch 38: 25 ccm Serum gegen 20 ccm dest. Wasser dialysiert. Dauer 26 Stunden.

Normalserum		2% Harnstoff im Serum		1% NH_4Cl im Serum	
a)	b)	a)	b)	a)	b)
0,0304	0,0298	0,0310	0,0324	0,0460	0,0450

Versuch 39: 28 ccm Serum gegen 23 ccm Wasser dialysiert. Die angegebenen Zusätze sind innen und außen zugefügt. Dauer 26 Stunden.

	Normal-serum	Normal-serum	Guanidin 0,1 mol.	Betain 0,1 mol.	Coffein 0,1 mol.
Ca nachher . . .	0,0292	0,0280	0,0496	0,0530	0,0400

Den Untersuchungen an Knorpel entsprechend hemmen die hier geprüften Stoffe die Bindung des Ca an die Serumkolloide und führen ihn in erhöhtem Maße in diffusible Form über. Am geringsten und nicht außerhalb der Fehlergrenzen ist die Wirkung des Harnstoffs, sehr ausgesprochen die von Ammonchlorid, Guanidin, Betain und Coffein.

IV. Anwendbarkeit auf Fragen der Physiologie und Pathologie.

Die im Laufe unserer Untersuchungen wiederholt von uns vertretene Ansicht, daß der Gewebskalk mindestens teilweise in der Form von Verbindungen mit den Gewebskolloiden vorliegt, führt zu einer anderen Auffassung über die Bedeutung der Ca-Ionen einer Lösung, die mit Geweben in Berührung steht, als sie gemeinhin vertreten wird. In pharmakologischen und physiologischen Untersuchungen begegnet man immer wieder der Auffassung, daß es nur auf die Ca-Ionenkonzentration der Lösung ankomme, die auf ein Gewebe oder Organ einwirkt, während der im Organ selbst vorhandene Ca-Gehalt keine wesentliche

Bedeutung für den Funktionsablauf besitze. Diese Auffassung ist mit den Ergebnissen, die wir bisher über Kalkbindung erzielt haben, unvereinbar.

Bei den im Organismus gegebenen Reaktionsverhältnissen muß wenigstens ein Teil des Gewebekalkes in Bindung an die Kolloide der Gewebe angenommen werden. Da der Betrag des so gebundenen Kalkes aber abhängig ist von der Ca-Ionenkonzentration der Lösung, die das Gewebe umspült, so ergibt sich, daß die Bedeutung der Ca-Konzentration dieser Lösung nur eine indirekte ist. Diese befindet sich im Gleichgewicht mit dem gebundenen Gewebskalk und jede Konzentrationsänderung verändert dieses Gleichgewicht, führt also zur Ca-Aufnahme oder -Abgabe durch das Gewebe. Mit diesen Änderungen im Kalkbestand sind aber, wie wir früher zeigten, Änderungen im Hydratationszustand der Gewebskolloide verbunden.

Auf derartige Verschiebungen im Quellungszustand der Gewebskolloide führen wir die funktionellen Einwirkungen von Verschiebungen der Ca-Ionenkonzentration der Lösungen zurück, wie sie in der Physiologie, Pharmakologie und Pathologie bekannt sind.

Die Bedeutung unserer Beobachtungen über die Einwirkung N-haltiger Substanzen auf die Kalkbindung (Hemmung durch Aminosäuren, Amine, Harnstoff, Ammoniaksalze) besteht darin, daß Wirkungen dieser Stoffe nunmehr auf Verschiebungen im Kalkbestand zurückzuführen und einer kolloidchemischen Erklärung zugänglich sind.

Eines der bekanntesten Beispiele des Calciumeinflusses ist die auf die nervöse Erregbarkeit im Sinne der Dämpfung bei Erhöhung, der Steigerung bei Abnahme des Ca-Ionengehaltes. Die pathologische Steigerung der nervösen Erregbarkeit, die Tetanie, ist kürzlich von den Verfassern an anderer Stelle[1]) zum Gegenstand eingehender Betrachtungen gemacht worden. Neben denjenigen Formen der Tetanie, die durch eine Verminderung der Ca-Ionenkonzentration im Blut bedingt sind (Phosphattetanie, Bicarbonattetanie), gibt es Formen, die dadurch entstehen, daß Gifte Ca aus den Erregungskolloiden verdrängen.

Ein solches Gift, welches bei der parathyreopriven Tetanie in vermehrter Menge gebildet und ausgeschieden wird und toxikologisch ein der Tetanie sehr ähnliches Bild erzeugt, ist das Guanidin. Dieser Stoff übt, wie unsere oben angeführten Versuche beweisen, eine starke Hemmungswirkung auf die Kalkbindung aus. Wir gewinnen mit dieser Feststellung also ein Verständnis des Wirkungsmechanismus des Guanidins und wir vermögen die Guanidintetanie den anderen Tetanie-

[1]) Jahrb. f. Kinderheilk. 1921, Bd. 96.

formen insofern gleichzusetzen, als sie wie diese auf einem Kalkverlust der Erregungskolloide beruht. Nur kommt dieser Kalkverlust nicht indirekt wie bei der Phosphat- und Bicarbonattetanie zustande, indem das Ca-Gleichgewicht zwischen den erregbaren Elementen und dem Blut gestört ist, sondern direkt, indem hier das Gift kalkverdrängend wirkt. Wir haben im Sinne dieser Ausführungen zwischen Blut- und Gewebstetanien unterschieden.

Das Beispiel des Guanidins zeigt, daß die hier entwickelten Gesichtspunkte eine Handhabe zur pharmakologischen Analyse darbieten. Eine Anwendung auf die Untersuchung des Wirkungsmechanismus von Stoffen wie z. B. Coffein[1]), Muscarin und andere Amine erscheint aussichtsreich.

Wir halten die Beeinflussung des Hydratationszustandes der Erregungskolloide durch Bindung oder Entbindung von Ca-Ionen nicht nur für die Grundlage der Lehre der pathologisch gesteigerten Erregbarkeit, sondern glauben, daß diese Theorie auch physiologische Erregungsvorgänge in mancher Hinsicht besser dem Verständnis zuführt, als dies die früheren Erklärungsversuche vermochten.

Die Erregung des Atemzentrums durch Säure bzw. Kohlensäure würde hiernach indirekt zustande kommen[2]), indem Ca frei gemacht wird und die dadurch gesteigerte Quellung der erregbaren Elemente die Erregung veranlaßt. Kohlensäureabgabe würde den Vorgang umkehren. Die Abnahme an H-Ionen im Gewebe führt zu gesteigerter Ca-Bindung an die Kolloide der erregbaren Elemente, deren Quellungszustand und Erregbarkeit hierdurch sinkt.

Diese Auffassung beruht auf der These, daß die Erregung unter dem kolloidchemischen Vorgang einer Quellung verläuft, wie dies Höber annimmt. Da nun die Quellbarkeit stärker durch Ca-Ionen als durch H-Ionen im Bereich der physiologisch möglichen H-Ionenkonzentration beeinflußt wird, so glauben wir, daß auch die Erregungsvorgänge im Organismus mit größerer Berechtigung auf Ca-Ionen- als auf H-Ionenwirkung zu beziehen sind.

Daß mit dieser Ableitung auch Beziehungen der Ca-Ionen zur Wasserbindung durch die Biokolloide in den Bereich der Ca-Wirkungen einzubegreifen sind und Möglichkeiten zu Untersuchungen über Diurese und Ödem sich bieten, ergibt sich hieraus ohne weiteres.

Zusammenfassung.

1. Aminosäuren, Peptide, ferner Imidazol, Methylamin, Trimethylamin, Betain, Guanidin, Methylguanidin und Kreatin hemmen die

[1]) In Versuchen mit Serumdialyse konnten wir durch Coffein tatsächlich eine Spaltung des vorgebildeten Ca-Kolloids nachweisen, wie Versuche 37 und 39 zeigen.

[2]) Vgl. gemäß der oben angegebenen Ronaschen Formel die Beziehungen von Ca-, H- und HCO_3-Ionen zueinander.

Kalkbindung an Knorpelgewebe. Ohne Wirkung wurden Glycinanhydrit und Kreatinin, sowie Cholin und Adrenalin gefunden. Die erstgenannten Stoffe, soweit sie darauf geprüft wurden, sowie Coffein, hemmen auch die Bindung von Ca an die Serumkolloide und erhöhen die diffusible Kalkfraktion im Serum.

2. So wie früher gefunden worden war, daß Acetat und Nitrat die Ca-Bindung durch jugendliches Knorpelgewebe hemmen, wird nunmehr festgestellt, daß auch die Kalkbindung durch Gehirnmasse aus Serum durch diese Anionen herabgesetzt wird im Vergleich zu Chlorid und Rhodanid. Auch die Erhöhung der Konzentration an Bicarbonat und Phosphat führt zu einer analogen Herabsetzung. Diese Wirkung ist als indirekte anzusprechen, indem die Löslichkeit bzw. Dissoziation der Calciumverbindungen im Serum herabgesetzt wird.

3. Da in Dialyseversuchen mit Serum gefunden wird, daß Acetat und Nitrat Ca in indiffusible Form überführen, wird die Verschlechterung der Ca-Bindung an eine zweite (feste) Phase auf Entionisierung von Ca in der ersten Phase infolge Komplexbildung mit in ihr gelösten Kolloiden zurückgeführt.

4. Diese Befunde können als Grundlage für die Erklärung zahlreicher Tatsachen der Physiologie, Pathologie und Pharmakologie, namentlich bez. der Erregungsvorgänge, dienen.

Autorenverzeichnis.

Aiello, Guiseppe. Über die Verteilungskoeffizienten der Diuretica und Narkotica und die Theorie der Narkose. S. 192.

— Über die Chemie der Normal- und der Gauchermilz. S. 228.

— Josef. Über den Einfluß der venösen Stauung auf den Quellungszustand der Blutkörperchen. S. 100.

Bayer, Gustav. Über eine Veränderung des Glykogens durch Belichtung. S. 97.

Bode, G. und K. Hembd. Über den Mangangehalt von Kartoffeln. S. 84.

Brinkmann, R. und Frl. H. Wastl. Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine. IV. Über die Bedeutung des Verhältnisses Cholesterin-Lecithin der Körperoberfläche für die Stabilität der Blutkörperchensuspension und für die natürliche Hämolyse. S. 25.

Bürger, Max. Über die Wirkung der intravenösen Injektion hypertonischer Lösungen verschiedener Zuckerarten auf den respiratorischen Gaswechsel des Hundes. S. 1.

Creveld, S. van s. J. de Haan.

Forssman, J. Zur Chemie der Wassermannreaktion. II. Mitteilung. S. 185.

Fränkel, Sigmund und Artur Käsz. Über Lipoide. XIX. Mitteilung. Über ein Lecithin aus Menschenhirn. S. 216.

Freudenberg, E. und P. Gjörgy. Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VI. S. 299.

Freundlich, H. Bemerkungen zu den Abhandlungen von Heinrich Herbst über Adsorptionskohle. S. 298.

Funck, Albert. Ein Beitrag zur Lehre von der Blutgerinnung. S. 148.

Gilbert, Oskar. Über Lipoide. XVIII. Mitteilung. Über die Darstellung von Phosphorsulfatiden aus Gehirn. S. 206.

Gjörgy, P. s. E. Freudenberg.

Haan, J. de und S. van Creveld. Über die Wechselbeziehungen zwischen Blutplasma und Gewebeflüssigkeiten, insbesondere Kammerwasser und Cerebrospinalflüssigkeit. S. 172.

Hembd, K. s. G. Bode.

Joachimoglu, Georg. Vergleichende Untersuchungen über die antiseptische Wirkung einiger Chlorderivate des Methans, Äthans und Äthylens. S. 130.

Käsz, Artur s. Sigmund Fränkel.

Levene, P. A. Synthese von 2-Hexosaminsäuren und 2-Hexosaminen. S. 37.

Meier, Klothilde. Über die aktuelle Reaktion des Liquor cerebrospinalis. S. 137.

— s. H. Straub.

Miyadere, Koichi. Über die Funktion der Verdauungsdrüsen bei Avitaminosen. S. 244.

Muresanu, Augustin. Über die Verteilung des Chlors auf Blutkörperchen und Plasma bzw. Serum. S. 114.

Nees, Friedrich. Über die lipolytische Fähigkeit der weißen Blutkörperchen. S. 156.

Olsen, O. Die Wirkung des Kaolins auf die Endstückkomponente und das Tributyrinspaltungsvermögen des Meerschweinchenserums. S. 119.

Oparin, Alexander. Das grüne Atmungspigment und seine Bedeutung bei der Oxydation der Eiweißkörper in den keimenden Samen des Helianthus Annuus. S. 90.

Richter-Quittner, M. Zur Methodik der chemischen Blutanalyse. III. Die Bedeutung der Ultrafiltrationsmethode für die Blutanalytik. S. 106.

Salén, Ernst. Serum und Plasma im Ultramikroskop. S. 248.

Sammartino, Ubaldo. Über die Chemie der Lunge. I. Mitteilung. S. 234.

Schachenmeier, Hermann. Beitrag zur agglutinogenen Wirkung der Bakterienfette. S. 165.

Straub, H., und Klothilde Meier. Die Alkalireserve der Nierenkranken. S. 259.

Wastl, Frl. H. siehe R. Brinkmann.

Fortsetzung des Inhaltsverzeichnisses!

Forssmann, J. Zur Chemie der Wassermannreaktion. II. Mitteilung 185
Aiello, Giuseppe. Über die Verteilungskoeffizienten der Diuretica und Narkotica und die Theorie der Narkose 192
Gilbert, Oskar. Über Lipoide. XVIII. Mitteilung. Über die Darstellung von Phosphorsulfatiden aus Gehirn 206
Fränkel, Sigmund und **Artur Käsz.** Über Lipoide. XIX. Mitteilung. Über ein Lecithin aus Menschenhirn 216
Aiello, G. Über die Chemie der Normal- und der Gauchermilz . . 228
Sammartino, Ubaldo. Über die Chemie der Lunge. I. Mitteilung 234
Miyadere, Koichi. Über die Funktion der Verdauungsdrüsen bei Avitaminosen 244
Salén, Ernst. Serum und Plasma im Ultramikroskop 248
Straub, H. und **Klothilde Meier.** Die Alkalireserve der Nierenkranken 259
Freundlich, H. Bemerkungen zu den Abhandlungen von Heinrich Herbst über Adsorptionskohle 298
Freudenberg, E. und **P. Gjörgy.** Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VI 299
Autorenverzeichnis 311

OSCAR ROTHACKER
Buchhandlung für Medizin :: Berlin N 24

Wir suchen zu **hohen den Zeitverhältnissen angepaßten Preisen** zu kaufen vollständige Reihen und einzelne Bände von

Biochemische Zeitschrift | **Zeitschrift für Biologie**
Zeitschrift für physiologische Chemie | **Berichte d. deutsch. chemischen Gesellschaft**
Zentralblatt für Biochemie und Biophysik | **Chemisches Zentralblatt** (27)

Ab Januar 1922 erscheint

als Fortsetzung der Therapeutischen Halbmonatshefte und der Berliner Klinischen Wochenschrift

Klinische Wochenschrift

Schriftleitung:

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **C. von Noorden**-Frankfurt am Main, Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **C. Posner**-Berlin, Ministerialdirektor Prof. Dr. **A. Gottstein**-Berlin, Dr. **V. Salle**-Berlin, Privatdozent Dr. **P. Jungmann**-Berlin.

Fachbeiräte:

Chirurgie und Orthopädie: Prof. Dr. **V. Schmieden**, Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik, Frankfurt a. M.

Gynäkologie und Geburtshilfe: Prof. Dr. **R. Th. v. Jaschke**, Direktor der Universitäts-Frauen-Klinik Gießen.

Kinderheilkunde: Prof. Dr. **L. Langstein**, Direktor des Kaiserin Auguste Victoria-Hauses, Reichsanstalt zur Bekämpfung der Säuglings- und Kleinkindersterblichkeit, Berlin-Charlottenburg.

Neurologie und Psychiatrie: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **O. Bumke**, Direktor der Psychiatrischen und Universitäts-Nervenklinik der Universität Leipzig.

Haut- und Geschlechtskrankheiten: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **J. Jadassohn**, Direktor der Universitäts-Klinik für Hautkrankheiten, Breslau.

Augenheilkunde: Prof. Dr. **C. Wessely**, Direktor der Universitäts-Augenklinik, Würzburg.

Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten: Prof. Dr. **W. Lange**, Direktor der Klinik für Ohren- und Nasenkrankheiten der Universität Göttingen.

Pharmakologie und Arzneimittellehre: Prof. Dr. **W. Heubner**, Direktor des Pharmakologischen Institutes der Universität Göttingen.

Bakteriologie, Serologie, Hygiene: Prof. Dr. **R. Doerr**, Direktor des Hygienischen Institutes der Universität Basel.

Physikalische Medizin: Prof. Dr. **H. Dietlen**, Oberstdorf i. Allgäu, Kuranstalt Stillachhaus.

Verlag von

Julius Springer in Berlin und J. F. Bergmann in München und Wiesbaden

Die „Klinische Wochenschrift" erscheint am Sonnabend jeder Woche und kostet im In- und Ausland M. 30.— vierteljährlich. Sie ist durch alle Postämter Deutschlands, Deutsch-Österreichs, Ungarns und der Tschecho-Slowakei, durch alle Buchhandlungen sowie direkt von der Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9 zu beziehen. Bei Kreuzbandbezug treten zu dem Bezugspreise die Portokosten.

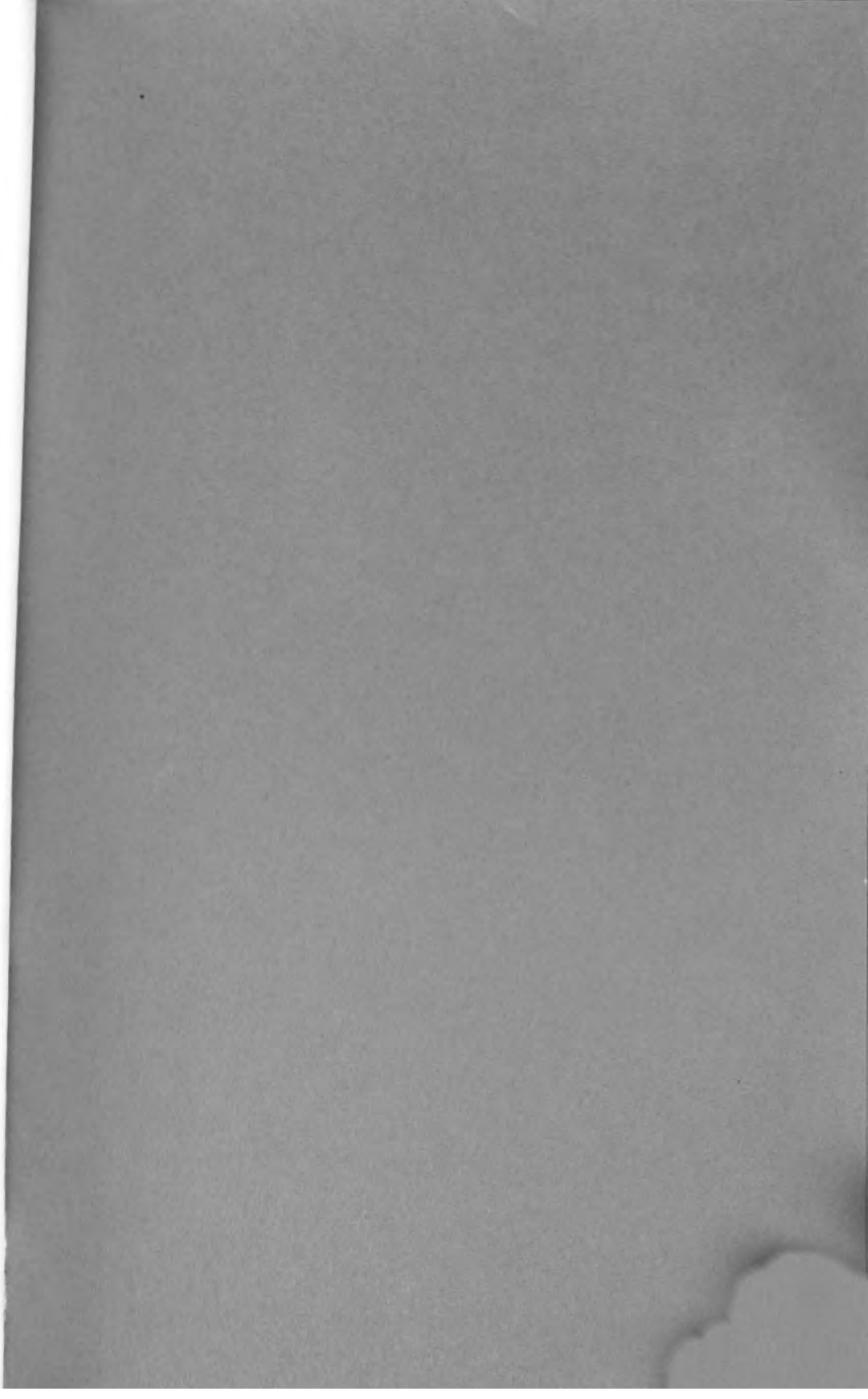
Die „Klinische Wochenschrift" wird die Traditionen der beiden angesehenen Zeitschriften, aus deren Verschmelzung sie hervorgeht, weiter pflegen. Sie stellt sich bewußt in den Dienst des am Krankenbett handelnden Arztes und wird bei der Auswahl der zu publizierenden **wissenschaftlichen Originalarbeiten** sowie der **zusammenfassenden Darstellungen** bemüht sein, durch eingehende Behandlung sämtlicher Gebiete der praktischen Medizin die Interessen der Leser zu berücksichtigen. **Therapeutischen Fragestellungen** soll ein großer Teil der regelmäßig erscheinenden **Ergebnisartikel** sowie die aus den Therapeutischen Halbmonatsheften übernommenen Rubriken der **Rezepte und Technizismen**, der **Neuen Arzneimittel und Spezialitäten** (einschließlich Nährpräparate und Geheimmittel) und der **Fragen und Auskünfte** gewidmet sein, während andere zusammenfassende Arbeiten sowie der Abschnitt **Kasuistik** mehr diagnostischen Zielen dienen sollen.

Der Zusammenhang mit den **Grundlagen der medizinischen Wissenschaft** wird durch in jedem Heft zum Abdruck kommende **zusammenfassende Darstellungen** allgemein interessierender wichtiger Probleme gewahrt bleiben. Außerdem soll über Arbeiten aus dem Gebiete der theoretischen Medizin regelmäßig in den kritischen **Übersichtsdarstellungen des Referatenteils** berichtet und für neue Forschungsergebnisse die Rubrik **Kurze wissenschaftliche Mitteilungen** geschaffen werden.

Für die Fragen des **öffentlichen Gesundheitswesens** und für Mitteilungen über **Standesangelegenheiten** und Fragen des **ärztlichen Rechts** ist ein besonderer Abschnitt vorgesehen.

Der **Referatenteil** wird durch Angliederung an die Organisation der im Verlage Julius Springer erscheinenden Zentralblätter in der Lage sein, alle wichtigen Arbeiten der Weltliteratur kritisch zu berücksichtigen. Der **Gesellschaftsbericht** wird über die Verhandlungen der deutschen ärztlich-wissenschaftlichen Gesellschaften sowie über die Kongresse des deutschen Sprachgebietes orientieren.

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig



STACKS

141722